

**Laboruntersuchungen an Karpfen
(Cyprinus carpio L.)
über Rückstände von Bayluscid® und dessen
Einwirkung auf das Karpfenblut**

Mohamed Sayed Mohamed Marzouk

1981

Aus dem Institut für Zoologie und Hydrobiologie der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Prof.Dr.M.Ruf

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof.Dr.H.H.Reichenbach-Klinke

Laboruntersuchungen an Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) über
Rückstände von Bayluscid^(R) und dessen Einwirkung auf das
Karpfenblut

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig - Maximilians -
Universität München

von
Mohamed Sayed Mohamed Marzouk
aus
Kairo - Ägypten

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. M. Ruf

Korreferent: Prof. Dr. H. K. Dennig

Tag der Promotion: 24. Juli 1981



INHALTSVERZEICHNIS:

Seite

A. Einleitung

1

B. Literaturübersicht

2

I. Das Bayluscid^(R)

2

1. Definition und Darstellung

2

2. Nachweis von Bayluscid^(R) im Wasser

3

3. Anwendungsbereich von Bayluscid^(R)

5

4. Wirkungsmechanismus von Bayluscid^(R)

6

5. Die Wirkung von Bayluscid^(R) auf Organismen

6

a. Menschen

6

b. Nutz- und Wasserpflanzen

7

c. Schnecken

8

d. Fische

10

II. Das normale Blutbild von Karpfen (*Cyprinus carpio* L.)

12

1. Die korpuskulären Bestandteile

12

2. Der Hämatokrit

13

3. Das Hämoglobin

14

4. Das Gesamteiweiß

15

C. Eigene Untersuchungen

16

I. Material und Methodik

16

1. Materialbeschaffung

16

2. LC₅₀-Versuche

17

3. Versuchsanordnung

18

4. Untersuchungsmethoden:

20

a. Nachweis von Bayluscid^(R) im Wasser

20

b. Labormethode zur Bestimmung von Bayluscid^(R) in den Organen (Kiemen und Leber)

21

c. Die Genauigkeit der Methode zum Bayluscid^(R)-Nachweis in Karpfenorganen

23

d. Elimination von Bayluscid^(R) bei Versuchsfischen

24

5. Blutuntersuchungen

24

6. Fehlerberechnung und Signifikanzanalyse

28

INHALTSVERZEICHNIS:

Seite

II. Ergebnisse

1. LC_{50} -Wert von Bayluscid^(R) 28
2. Das klinische Verhalten der Karpfen (Cyprinus carpio L.) 30
3. Das Blutbild der Karpfen (Cyprinus carpio L.) unter Bayluscid^(R)-Einfluß: 32
 - a. Die Erythrozytenzahl 32
 - b. Der Hämatokrit 37
 - c. Das Hämoglobin 41
 - d. Das Gesamteiweiß 49
4. Ergebnisse der Untersuchung auf Bayluscid^(R)-Rückstände in Karpfenorganen (Kiemen und Leber) 53
5. Elimination von Bayluscid^(R) bei Versuchsfischen 56

D. Diskussion

57

E. Zusammenfassung

66

SUMMARY

68

LITERATURVERZEICHNIS

70

LEBENS LAUF

78

Meiner Frau

Meinen Eltern

A) Einleitung:

Insektizide werden heute vor allem in den tropischen Gebieten in zunehmendem Maße verwendet. Sie dienen der Verhinderung von wichtigen Parasitosen wie Bilharziose, Onchocercose, Malaria etc., wobei der Zwischenwirt vernichtet und damit der Kreislauf der Parasiten unterbrochen wird.

Die Mittel wirken jedoch nur selten spezifisch, oft wird eine allgemeine Schädigung der Ökosysteme verursacht.

Genauere Felduntersuchungen über die Auswirkung der Insektizide auf die natürlichen Systeme wurden bisher wenig durchgeführt.

Derartiges bietet sich jedoch an, weil z.B. in Gebieten mit gehäufter Bilharziose bei der Bekämpfung der Wasserschnecken die Molluskizide direkt in das Wasser gebracht werden und dabei nicht nur diesen Zwischenwirt vernichten, sondern auch im Wasser befindliche andere Lebewesen schädigen können. Demnach muß auch mit einem nachteiligen Einfluß auf die Fischpopulation gerechnet werden.

In der hier vorliegenden Arbeit wurden die toxischen Auswirkungen des Molluskizids Bayluscid^(R) auf den Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) als einen Vertreter europäischer Süßwasserfische untersucht.

Mittels Blutparametern wie Erythrozytenzahl, Hämatokritwert, Hämoglobingehalt, Gesamtbluteiweiß sowie von Rückstandsuntersuchungen in Leber und Kiemen sollte vergleichend zur Kontrollgruppe das Ausmaß eventueller durch das Mittel verursachten Schädigungen überprüft werden.

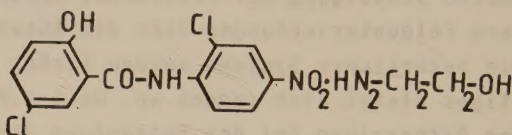
B) Literaturübersicht:

1. Bayluscid^(R):

1. Definition und Darstellung:

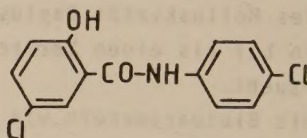
Bayluscid^(R) ist ein Molluskizid mit folgender chemischen Bezeichnung: 5,2-Dichlor-4-nitro-Salicylanilid-äthanolamin.

Strukturformel:



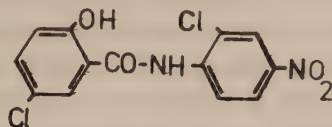
Über die Arbeiten, die zur Auffindung des Bayluscids^(R) geführt haben, wurde von SCHRAUFSTÄTTER, MEISER und GÖNNERT (1961) sowie von SCHRAUFSTÄTTER (1962) berichtet. Bei der systematischen Prüfung Tausender von Verbindungen ergab sich ein gewisser Anhaltspunkt bei Salicylaniliden, wie z.B. dem 5,4-Dichlorsalicylanilid, das noch bei 10 ppm die Schnecken abtötete.

5,4-Dichlorsalicylanilid



Die systematische chemische Bearbeitung dieses Verbindungstyps von SCHRAUFSTÄTTER (1962) führte durch die Veränderung der Chloratomstellungen und die Kombination von Nitrogruppen in einem Molekül zu einer Verbindung mit ausgezeichneter molluskizider Wirkung. Diese Substanz wurde unter der Bezeichnung "Molluskizid Bayer 73" bekannt (GÖNNERT und SCHRAUFSTÄTTER, 1959) und steht heute nach umfangreicher Prüfung in Labor- und Feldversuchen unter dem Namen "BAYLUSCID^(R)" zur Bekämpfung der Schnecken zur Verfügung, die als Zwischenwirte bei Trematodenerkrankungen der Wirbeltiere und Menschen Bedeutung haben.

Chemisch ist Bayluscid^(R) eine 70 %ige, mit Wasser leicht benetzbare Zubereitung des Äthanolaminsalzes des 5,2-Dichlor-4-nitro-salicylanilids folgender Konstitution:



Chemisch reines Salz dieser Verbindung weist eine intensiv gelbe Farbe auf, als technisches Produkt hat es aber eine grau-gelbe Farbe. Die Löslichkeit des freien Wirkstoffes im Wasser ist gering und ist im großen Maße von Temperatur und Salzgehalt des Wassers abhängig.

Nach GÖNNERT (1962) beträgt die Löslichkeit von Bayluscid^(R) in Aqua dest. bei +20°C maximal 240 mg/l, bei +40°C 280 mg/l, in Leitungswasser (15° d.H.) bei +20°C aber nur noch 130 mg/l bzw. bei +40°C nicht mehr als 185 mg/l.

Das Äthanolaminsalz des 5,2-Dichlor-4-nitro-salicylanilids besitzt nach HECHT und GLOXHUBER (1962) eine geringe Wasserlöslichkeit (230 ±50 ppm bei Zimmertemperatur) und weist einen Schmelzpunkt von 216°C auf. In organischen Solventien (wie z.B. Aceton) ist der freie Wirkstoff relativ gut löslich.

Bayluscid^(R) ist eine thermisch sehr stabile Substanz (SCHRAUF-STÄTTER 1962) und die Laugen- und Säurebeständigkeit sehr groß. Erst beim Kochen mit konzentrierten Laugen oder Säuren tritt eine Verseifung ein.

2. Nachweis von Bayluscid^(R) in Wasser:

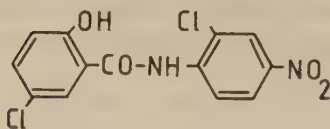
Bei der Anwendung von Bayluscid^(R) im Freiland muß kontrolliert werden, ob die für Abtötung der Schnecken ausreichende Konzentration im Wasser erreicht bzw. eingehalten werden kann. Es ist daher notwendig, einige zuverlässige Analytikmethoden zur Bestimmung des Bayluscids^(R) in Wasserproben zu entwickeln. Dieselben Analytikmethoden werden auch zur Bestimmung der Rückstände von Bayluscid^(R) in vorbehandelten Organismen (Pflanzen bzw. Tiere) verwendet.

a. Feldmethoden:

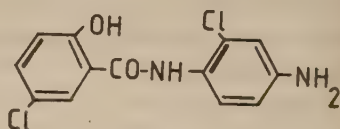
STRUFE (1962) beschrieb zwei Verfahren zur Feststellung von Bayluscid^(R) in hoher Verdünnung bei Feldversuchen, die zur quantitativen Wirkstoff-Bestimmung auf kolorimetrischem Wege ausgearbeitet worden sind. Unter Zugrundlegung der gleichen Reaktionsprinzipien berichtete auch FARRINGTON (1962) über zwei Methoden. Die erste Methode beruht darauf, daß Bayluscid^(R) zunächst durch Extraktion aus der Wasserprobe mit organischen Lösungsmitteln angereichert und dann mit basisch reagierenden Verbindungen in eine gelb gefärbte Acid-Form übergeführt wird. Bei dem zweiten Verfahren erfolgt die Wirkstoffbestimmung durch die Fähigkeit von Bayluscid^(R), mit Farbstoffen (Safranin-TH) Komplexe zu bilden, die sich mit organischen Lösungsmitteln aus dem Wasser ausschütteln und anschließend kolorimetrisch messen lassen. Die zweite Feldmethode ist von STRUFE (1963) überarbeitet und vereinfacht worden.

b. Labormethoden:

STRUFE (1965) entwickelte zwei Labormethoden zur Bestimmung von Bayluscid^(R) in Wasser. Das Prinzip der ersten besteht darin, daß sich der Wirkstoff Typ I durch Behandlung mit einem Reduktionsmittel in ein p-Phenylendiaminderivat vom Typ II überführen läßt.



Typ I



Typ II

Die Verbindung II kann nach vorherigem Diazotieren unter Bildung eines blauen Farbstoffes gekoppelt werden. Als Kopplungskomponente hat sich besonders 1-Naphthyläthylendiamin bewährt. Das Prinzip des zweiten Verfahrens nach STRUFE (1965) ist auf S.20 beschrieben.

3. Anwendungsbereich von Bayluscid^(R):

Bayluscid^(R) eignet sich hervorragend zur Bekämpfung von Wasserschnecken, die als Zwischenwirte bei der Schistosomiasis (Bilharziose), bei der Fasciolose und anderen Trematoden-Erkrankungen eine Rolle spielen. Das Präparat wirkt bereits in sehr geringen Konzentrationen sowohl gegen Schnecken als auch gegen Schneckenlaich. Die Abtötung erfolgt innerhalb weniger Stunden.

Die Wirksamkeit von Bayluscid^(R) gegen eine größere Zahl von Schneckenspezies mit medizinischer Bedeutung im Labor und/oder Feldversuch ist von GÖNNERT (1962) getestet worden. Hierbei hat es stets eine gute Wirkung gegen Wasserschnecken gezeigt. Er stellte fest, daß das Bayluscid^(R) nicht nur gegen Schnecken verschiedenen Alters wirksam ist, sondern auch eine toxische Wirkung auf Schneckenlaich besitzt. Gegen alle Entwicklungsstadien der Schnecken im Ei sei es mindestens so wirksam wie gegenüber heranwachsenden und adulten Schnecken. Der ganz junge Laich, der nicht älter als einen Tag ist, mache eine Ausnahme, weil er besonders empfindlich gegenüber Bayluscid^(R) ist.

Über den Einfluß der Umweltfaktoren auf die Wirksamkeit von Bayluscid^(R) wurde von GÖNNERT und STRUFE (1961) festgestellt, daß die Stabilität von Bayluscid^(R) in wäßriger Lösung durch Licht beeinträchtigt wird. Die Abnahme der Wirksamkeit ist abhängig von der Dauer und Intensität der Belichtung sowie der Wellenlänge des Lichtes. Außerdem wird die Wirksamkeit und die Stabilität einer Bayluscidlösung durch den Salzgehalt des Wassers im Einklang zu VERDEL et al.(1977) nur geringfügig beeinflusst. Schließlich wird die Wirksamkeit des Bayluscid^(R) im pH Bereich von 5 - 9 wenig beeinflusst. Nur VERDEL et al.(1977) berichteten, daß die Wirksamkeit von Bayluscid^(R) bei höheren pH-Werten verringert wird.

4. Wirkungsmechanismus von Bayluscid^(R):

Der Wirkungsmechanismus von Bayluscid^(R) bei Schnecken wurde von STRUFE (zit. bei GÖNNERT, 1962) eingehend bearbeitet. Er stellte fest, daß der Wirkstoff des Bayluscids^(R) in verschiedene Fermentsysteme, vornehmlich in die der Atmung und des Kohlehydratstoffwechsels, eingreift. Dabei wird die Atmung irreversibel blockiert. Nach GÖNNERT und SCHRAUFSTÄTTER (1959) sowie GÖNNERT und STRUFE (1961) wird die Sauerstoffaufnahme von Schnecken durch schneckenwirksame Konzentration von Bayluscid^(R) gehemmt.

5. Die Wirkung von Bayluscid^(R) auf Organismen:

a. Menschen und Säugetiere:

Die Toxizität von Bayluscid^(R) auf Wirbeltiere und Menschen wurde von HECHT und GLOXHUBER (1962) untersucht. Diese kamen in einem Hauttest am Menschen zu dem Ergebnis, daß es nach 24 stündiger Applikation auf der menschlichen Haut keine erkennbare Veränderung verursachte. Über die akute Toxizität des Wirkstoffes bei Versuchstieren (Mäusen, Ratten, Kaninchen und Katzen), sowie der chronischen Toxizität bei Ratten und Hunden wurde festgestellt, daß er bei oraler Gabe eine geringe Giftigkeit aufwies, bei parenteraler Applikation eine höhere Toxizität besaß. Zu demselben Ergebnis kam KÄMMERER (zit. bei GÖNNERT, 1962) in einem Versuch mit einem jungen Rind, dem 3 Monate lang das Präparat mit dem Trinkwasser in einer Dosis von 2,3 g pro kg KGW und Tag verabreicht wurde. In chronischen Versuchen des gleichen Verfassers wurde demonstriert, daß der Wirkstoff von Bayluscid^(R) eine geringe Toxizität hat und keine cancerogenen Eigenschaften besitzt.

DUHM et al. (1963) studierten die Resorption, die Ausscheidung und die Verteilung von Bayluscid^(R) in der Ratte. Sie stellten fest, daß der nach oraler Gabe resorbierte Anteil innerhalb von 24 h im Urin als Reduktionsprodukt 5,2-Dichlor-4-amino-salicylanilid ausgeschieden wurde.

Unveränderter Wirkstoff konnte im Urin nur in geringer Menge nachgewiesen werden. Nach den Untersuchungen von GÖNNERT (1962) war dieses Ausscheidungsprodukt gegen Schnecken inaktiv. Er berichtete über die gute Verträglichkeit vor allem nach oraler Gabe sowie darüber, daß mit Bayluscid^(R) zur Schneckenvernichtung behandeltes Wasser gelegentlich als Trinkwasser verwendet wird, und relativ hohe orale Gaben (30 mg/kg KGW) von Menschen reaktionslos vertragen werden.

DUHM et al. (1963) konnten bei Ratten in keinem Organ nach wiederholter Gabe eine Speicherung von Bayluscid^(R) nachweisen. Nach ihren Untersuchungen kamen sie zu dem Ergebnis, daß das Wasser mit der zur Schneckenbekämpfung erforderlichen Konzentration für den Menschen und andere Warmblüter gefahrlos war.

b. Nutz- und Wasserpflanzen:

EUE, 1957 (zit. bei GÖNNERT, 1962) untersuchte die Wirkung von Bayluscid^(R) auf Nutzpflanzen (Senf, Hafer, Reis und Zuckerrohr) in Kurz- und Langzeitversuchen. Er konnte feststellen, daß es bei den zur Schneckenvernichtung erforderlichen und auch bei mehrfach höheren Konzentrationen keine Schädigung an den untersuchten Pflanzen verursachte. In einer Untersuchung an Zuckerrohr bestätigte PUGLIESE (zit. bei GÖNNERT, 1962), daß die zur Schneckenvernichtung erforderlichen Bayluscidkonzentrationen von dieser Nutzpflanze vertragen werden. Bei einem Feldversuch an Citrusbäumen stellten MEDENWALD und SHIFF (1965) fest, daß ein Anteil von 5 ppm von 3 - 4 Jahren alten Valencia Orangenbäumen vertragen werden konnte.

STURROCK (1974) hat bei einer Freilanduntersuchung im Bananenbau auf der westindischen Insel St. Lucia keine phytotoxischen Erscheinungen beobachtet und keine Rückstände von Bayluscid^(R) in den Früchten (Bananen) nachweisen können.

GÖNNERT, 1960 (zit. bei GÖNNERT, 1962) beschrieb verschiedene Schädigungen der Wasserpflanzen bei höheren Dosen (3 ppm).

FOSTER, TEESDALE und POULTON (1960) beobachteten dagegen keine Schädigung an Wasserpflanzen bei den zur Schneckenvernichtung erforderlichen Konzentrationen von Bayluscid^(R).

WEBBE (1962) beschrieb ein leichtes vorübergehendes Welken der Wasserpflanzen in derart behandelten Teichen bei Konzentrationen von 0,3 bis 1,0 ppm. In einer Untersuchung über den Einfluß von Bayluscid^(R) auf den Wasserfarn (*Salvinia auriculata*) und andere Wasserpflanzen konnten WILD und MITCHEL (1970) feststellen, daß er bei einer Konzentration von 2 ppm und mehr in zwei Wochen nach der Behandlung teilweise bzw. fast vollständig abgetötet worden war. Bei einer Bayluscidkonzentration unterhalb von 2 ppm wurden die Knospen der Pflanzen geschädigt und entwickelten abnormale Blätter, jedoch erholten sie sich bald wieder. Bei einer Konzentration von 0,5 ppm Bayluscid^(R) im Wasser wurde bei *Salvinia auriculata* und anderen Wasserpflanzen wie z.B. *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton octandrus* und *Vallisneria aethiopica* keinerlei Reaktion festgestellt.

c. Schnecken:

FOSTER (1962) untersuchte im Labor die Wirkung von Bayluscid^(R) gegen verschiedene Schneckenarten (*Biomphalaria pfeifferi* nairobiensis, *Bulinus tropicus* und *Lymnaea natalensis*) in Zeiträumen von 12 und 24 h. Es ergab sich, daß die wirksame Einwirkungsdauer bei Dosierungen von 0,5 ppm und 1,0 ppm 12 h oder weniger betrug.

B. pfeifferi zeigte bei einer Konzentration von 0,5 ppm eine 60 %ige Mortalität, während *B. tropicus* ohne irgendwelche schädlichen Folgen überlebte. Bei einer Konzentration von 1,0 ppm wurden sowohl *B. pfeifferi* als auch *L. natalensis* zu 100 % abgetötet, während von *B. tropicus* 15 - 20 % der Tiere die Behandlung überstanden.

Von FOSTER (1962) wurde auch ein Feldversuch im Nairobi-Fluß durchgeführt, welcher *B. pfeifferi* nairobiensis, *B. tropicus* und *L. natalensis* enthielt. Die Anwendungskonzentration betrug 1,0 ppm für eine Zeitdauer von 12 h.

Es zeigte sich, daß die Schnecken nach Anwendung des Bayluscids^(R) aus diesem behandelten Flußabschnitt völlig verschwunden waren. Die Wiederbesiedlung der Versuchsstrecke mit *B.pfeifferi* und *B.tropicus* begann 7 - 9 Wochen nach der Behandlung, während *L.natalensis* schon nach 5 - 6 Wochen zu finden war.

Von WEBBE (1962) wurde in Tanganjika eine Anzahl von Fischteichen, die Schneckenpopulationen von *B.pfeifferi*, *bridouxiana*, *B.coulboisi* und *L.natalensis* enthielten, mit Bayluscid^(R) in Konzentrationen von 0,3, 0,5, 1,0 bzw. 10 ppm behandelt. 48 h danach wurden in den behandelten Teichen keine lebenden Schnecken angetroffen; aus den Schneckenfallen abgelegte und in Aquarien überführte Eier entwickelten keine Schnecken mehr. Die Wiederbesiedlung aller behandelten Teiche mit Schnecken begann 8 - 9 Wochen nach der Behandlung (WEBBE 1961).

In einem Laborversuch wurde von GILLET und BRUAUX (1962) die Wirkung von Bayluscid^(R) gegen afrikanische Schnecken (*Biomphalaria*, *Bulinus* und *Lymnaea*), gegen ihre Eier sowie Larven von *Schistosoma mansoni* untersucht. Sie ermittelten, daß es sich schon in sehr geringer Konzentration als Molluskizid erwies, die Wirkung war sowohl ovizid (die Eier von *Lymnaea* zeigten eine 100 %ige Sterblichkeit nach einstündigem Kontakt mit 0,5 ppm oder nach 3 Stunden bei 0,1 - 0,25 ppm) als auch larvizid (die Larven starben innerhalb 2 - 5 min bei einer Konzentration von 0,5 - 4,0 ppm).

FAROOQ et al.(1966) untersuchten die Auswirkung von Schneckenbekämpfungsmaßnahmen auf die Bilharziose in zwei Gebieten Ägyptens, die 1963 zweimal mit Natriumpentachlorphenolat und 1964 genau so oft mit Bayluscid^(R) behandelt worden waren. Sie stellten fest, daß eine signifikante Abnahme der Infektionshäufigkeit mit *S.mansoni* und *S.haematobium* in den behandelten Gebieten auftrat.

MAGENDANZ (1974) beobachtete bei einem Feldversuch in einem Siedlungsgebiet am Viktoria-See (Mwanza, Tanzania), daß eine Dosis von 2,5 kg Wirkstoff/ha zu einer Minderung der Schnecken-

population (*B.choanomphala*, *Bulinus truncatus trigonus*, *Belamya* sp. und der Muschelgattung *Caelalura*) von weniger als 90 % führte, während die Dosis von 3,75 kg/ha nach Ausbringung unter günstigen Bedingungen allgemein ein Abtötungsergebnis von 90 - 100 % erbrachte. Außerdem wurden Untersuchungen über die Wiederbesiedlung durchgeführt. Diese führten zu dem Schluß, daß die Molluskizid-Behandlung mit einer Dosis von 3,75 kg/ha jährlich sechsmal in zweimonatigem Abstand vorgenommen werden sollte. Nach Angaben des Herstellers beträgt die Anwendungskonzentration von Bayluscid^(R) bei fließendem Gewässer 1,0 ppm, bei stehendem Gewässer 0,6 ppm. Diese Konzentrationen werden ins Wasser gespritzt oder mit einem Dispenser ausgebracht.

d. Fische:

In einem Versuch an 7 Fischarten, und zwar Bachforelle (*Salmo trutta fario*), Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*), kanad. Saibling (*Salvelinus namaycush*), Bachsaibling (*Salvelinus fontinalis*), Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*), Bluegill (*Lepomis macrochirus*) und gelbem Barsch (*Perca flavescens*) wurde von BILLS und MARKING (1967) festgestellt, daß Bachforellen gegen Bayluscid^(R) am empfindlichsten reagierten, jedoch der Bluegill eine große Resistenz zeigte.

FOSTER (1962) kam in einem Feldversuch zu dem Ergebnis, daß die Fische bei einer Konzentration von 1,0 ppm in der Versuchsstrecke des Nairobi-Flusses vernichtet wurden.

GÖNNERT (1962) berichtete über Fischsterblichkeit bei einem Anteil von 0,3 ppm.

HOLZ und ONG BTE HWA (1963) fanden bei einem Feldversuch heraus, daß Guppies (*Poecilia reticulata*) bei einer Konzentration von über 0,5 ppm weiter existieren konnten und diese Fischart etwa die 3fache der für Mollusken letalen Dosis vertragen konnte.

PAFLITSCHKE (1977) untersuchte die toxische Wirkung von Bayluscid^(R) auf Ei-, Jugend- und Adultstadien der Arten *Tilapia leucosticta* und *Heterotilapia multispinosa*. Er konnte in

statischen Kurzzeitversuchen (LC_{50} Versuche) an den beiden Tilapia-Arten feststellen, daß die Jugendstadien sich als besonders empfindlich erwiesen. In Langzeitversuchen (63 Tage) kam er zu dem Ergebnis, daß es (in subletaler Dosis) keine signifikante Einwirkung auf das Längenwachstum und die Gewichtszunahme von Jungfischen der Art *Tilapia leucosticta* hatte. Über die Auswirkung auf Eier, Dottersack- und Jungtiere berichtete er, daß die befruchteten Eier dem Bayluscid^(R) gegenüber nur wenig empfindlich sind, solange die Eihüllen noch intakt sind. Die Empfindlichkeit steigt mit der fortschreitenden Entwicklung. Bei den Versuchsfischen, die am 5. Entwicklungstag in 3 ppm Bayluscid^(R) getaucht wurden, stellte er Epithelablösungen, Nekrosen in der Schwanzflosse und Abdomenregion sowie späterhin Verkrümmungen der Wirbelsäule fest.

MARKING und HOGAN (1967) berichteten über die Giftigkeit des Bayluscids^(R) in zur Schneckenvernichtung erforderlichen Konzentration für 18 Fischarten. Sie faßten ihre Ergebnisse folgendermaßen zusammen: Bei einer Konzentration von 0,062 ppm wurden 50 % der Fischarten (Regenbogenforellen, Bachsaibling, Brown Bullheads, Flathead Catfish, small mouth Bass und large mouth Bass) innerhalb von 96 h abgetötet; auch bei der Konzentration von 0,081 - 0,109 ppm zeigten die Fischarten (Fathead minnow, white Sucker, black Bullhead, Channel Catfish, green Sunfish, Bluegill, Redear Sunfish, Yellow Perch und Tilapia) 50 % Sterblichkeit. Dagegen erwiesen sich Goldfisch und Karpfen widerstandsfähiger. Ihre LC_{50} -Werte lagen bei 0,148 bzw. 0,235 ppm. Sie stellten fest, daß die zur Schneckenvernichtung erforderliche Konzentration von 1,0 ppm auf diese Fische tödlich wirkt.

WEBBE (1962) stellte bei einer Konzentration von 0,3 - 1,0 ppm Bayluscid^(R) in Feldversuchen an *Tilapia esculenta*, *T. melanopleura*, *Protopterus aethiopicus*, *Clarias mossambicus* und *Astatoreochromis alluaudi* Beunruhigungserscheinungen und nachfolgenden Tod bei einer großen Anzahl von Fischen innerhalb 24 h nach der Behandlung fest. KOZIANOWSKI (1964) dagegen hält eine Schädigung verschiedener Fischarten erst bei Bayluscidkonzentrationen über

1 ppm für möglich. Aus der technischen Information über Bayluscid^(R) der Bayer AG, Leverkusen (1970), sind die LC₅₀-Werte für einige Fischarten nach MARKING und HOGAN (1967) aus folgender Tabelle (1) ersichtlich:

Fischart	LC ₅₀ -Wert
<i>Carassius auratus</i>	0,279 ppm/48 h
<i>Cyprinus carpio</i>	0,235 ppm/48 h
<i>Ictalurus melas</i>	0,096 ppm/48 h
<i>Lepomis macrochirus</i>	0,082 ppm/48 h
<i>Salmo gairdneri</i>	0,050 ppm/48 h

Tab. 1 : LC₅₀-Angaben für 5 Süßwasser-Spezies
(nach MARKING und HOGAN, 1967)

II. Das normale Blutbild von Karpfen (*Cyprinus carpio* L.):

Um das Blutbild der mit Bayluscid^(R) behandelten Fische mit dem Blutbild der gesunden und unbehandelten Fische vergleichen zu können, müssen zuerst die Normalwerte des Blutes von gesunden Fischen ermittelt werden.

1. Die korpuskulären Bestandteile:

Es ist aus der Literatur zu entnehmen, daß es für die Anzahl der korpuskulären Bestandteile des Blutes keine Übereinstimmung gibt. Nach TOPF (1953) machen die Erythrozyten den Hauptteil der Blutkörperchen aus. Daneben gibt es auch Leukozyten, Lymphozyten, Thrombozytoblasten und die Thrombozyten.

REICHENBACH-KLINKE (1980) berichtet über die erheblichen Schwankungen der Erythrozyten- und Leukozytenzahlen, die durch Umweltfaktoren (z.B. Wassertemperatur) oder Laichzustand bedingt

sein können. Nach SCHLICHER (1927) steigt die Blutkörperchenanzahl vor dem Laichen an und vor dem Winter sinkt die Anzahl der Blutkörperchen ab. Er berichtet auch über die Abhängigkeit der Blutkörperchenanzahl vom Sauerstoffgehalt des Wassers. DOMBROWSKI (1953) konnte feststellen, daß die Blutkörperchenzahl bei Sauerstoffmangel, wie z.B. nach Transporten in engen Gefäßen, Werte über 2 Millionen pro mm^3 Blut erreicht.

HOFMEYER (1907) und SCHLICHER (1927) stellten eine durch Hunger bedingte Verminderung der Zahl der Erythrozyten und Leukozyten fest. SCHLICHER (1927) konnte einen Wert von 1,4 - 2,0 Millionen pro mm^3 Erythrozyten und 35 - 85 Tausend pro mm^3 Leukozyten beim Karpfen ermitteln.

DOMBROWSKI (1953) fand beim gesunden Karpfen eine Erythrozytenzahl von 1,2 - 1,75 Millionen pro mm^3 Blut. Er konnte auch geringgradige Abweichungen der Erythrozytenzahl innerhalb der einzelnen Altersklassen feststellen.

KUDRJAZEW (1969) konnte eine Erythrozytenzahl von 1,2 - 1,75 Millionen pro mm^3 und eine Leukozytenzahl von 43 Tausend pro mm^3 Blut beim gesunden Karpfen berechnen. PANDEY (1974) ermittelte beim gesunden Karpfen eine Erythrozytenzahl von $1,345 \pm 0,23$ Millionen/ mm^3 Blut.

Nach PHILIPS (1940) sind Blutkörperchenzahlen unter 800 Tausend Erythrozyten pro mm^3 Blut als anämisch anzusehen und Fische mit Werten unter 710 Tausend Erythrozyten pro mm^3 nicht mehr lebensfähig.

2. Der Hämatokrit:

Mit Hilfe des Hämatokritwertes kann das Verhältnis zwischen Blutkörperchen und Blutplasma festgestellt werden. Der Hämatokrit ist abhängig von der Anzahl der Erythrozyten und der Veränderung im Blutplasma, d.h. verändert sich das Verhältnis von Erythrozyten und Blutplasma oder liegen anteilmäßig Veränderungen im Blutplasma vor, so ändert sich auch der Hämatokrit.

REICHENBACH-KLINKE (1980) berichtet, daß die Gesamtheit der korpuskulären Bestandteile bei Fischen mit Hilfe des Hämatokrits gemessen werden kann.

FRITZSCHE (1977) stellte fest, daß der Hämatokritwert von Fischen durch eine Vielzahl von Faktoren, wie z.B. Alter, Körpermasse, Geschlecht, Gonadenentwicklung, Jahreszeit, Stoffwechselaktivität, Umweltbedingungen (Temperatur und Qualität des Wassers) und Krankheiten beeinflusst wird. FRITZSCHE (1978) kam zu dem Ergebnis, daß die Abweichungen des mittleren Hämatokritwertes auch auf die Untersuchungstechnik zurückzuführen sind.

HALSBAND (1963) untersuchte die Veränderungen des Blutbildes von Fischen, die infolge toxischer Schäden auftreten können. Er konnte dabei feststellen, daß die Veränderung des Hämatokritwerts von der Art des einwirkenden toxischen Stoffes abhängig ist.

KUDRJAZEW (1969) ermittelte für Karpfen einen Hämatokritwert von 27 %/100 ml Blut, PANDEY (1974) gibt für gesunde Karpfen solche von $28,67 \pm 5,84$ %/100 ml Blut.

3. Das Hämoglobin:

Das Fischblut hat einen verhältnismäßig geringen Gehalt an Hämoglobin. Dieser geringe Hämoglobingehalt, die geringe O₂-Kapazität des Blutes, der sehr geringe O₂-Gehalt des arteriellen Blutes und das geringe Blutvolumen der Fische deuten darauf hin, daß das Hämoglobin bei den Fischen keine so wichtige Rolle wie bei den Landwirbeltieren spielt. Es gibt Fische, bei denen überhaupt das Hämoglobin fehlt, wie z.B. bei jungen Aalen und *Chaenocephalus aceratus*. Jedoch scheint die Resistenz des Fischhämoglobins gegen CO größer zu sein als bei den Säugetieren. Diese Annahme ist von ANTHONY (1960) durch Untersuchungen unterstützt worden. Er untersuchte an Goldfischen die Wirkung von Kohlenmonoxyd, das für Menschen und Säugetiere bekanntlich sehr giftig ist und bei geringen Konzentrationen in wenigen Minuten zum Tode führt. Er konnte feststellen, daß die Goldfische bei niedrigen Wassertemperaturen auch dann überlebten,

wenn dem Aquariumwasser ein Gasgemisch von 80 % CO und 20 % O₂ zugeleitet wurde. Dies kann bedeuten, daß die Fische auch ohne Hämoglobin auskommen können, sobald ihr Stoffwechsel durch geringe Temperatur herabgesetzt wird.

BUDDENBROCK (1967) berichtete, daß das Hämoglobin bei gesunden Fischen dem Körper nur einen Teil des Sauerstoffs zuführt, während der übrige Sauerstoffbedarf durch Hautdiffusion gedeckt wird. Aus der Literatur ist zu entnehmen, daß es für den Hämoglobingehalt des Fischblutes keine übereinstimmenden Angaben gibt.

Nach STEFFENS (1965) hängt der Hämoglobingehalt des Blutes von der Anzahl der Erythrozyten, sowie vom Hämoglobingehalt der einzelnen roten Blutkörperchen ab. Er berichtete über die Verminderung der Erythrozytenanzahl unter der Einwirkung von Abwassergiften und einseitiger Ernährung. Mit der Verringerung der Erythrozytenanzahl kann auch der Hämoglobingehalt sinken. Der Hämoglobinnormalwert beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) beträgt nach NICLOUX (1923) 12,2 g/100 ml Blut, nach GELINO (1957) beträgt er jedoch nur 11,4 g/100 ml Blut. DOMBROWSKI (1953) ermittelte für gesunde Karpfen einen Hämoglobinwert von 54 - 80 % (100 % entspricht 16 g/100 ml Blut) bei den verschiedenen Altersklassen. Nach KUDRJAZEW (1969) ist der Normalwert des Hämoglobingehaltes beim Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) 9,7 g/100 ml Blut. PANDEY (1974) ermittelte einen Hämoglobinwert beim gesunden Karpfen von $6,4 \pm 0,96$ g/100 ml Blut.

4. Das Gesamteiweiß:

Bei den ablaufenden Lebensprozessen spielen die Plasmaproteine wie Globuline und Albumine eine wichtige Rolle. Für die Beurteilung des Gesundheitszustandes der Fische ist die Bestimmung des Eiweißgehaltes des Blutplasmas von besonderer Bedeutung, weil die Antikörperbildung und damit die Krankheitsabwehr an diese Stoffe gebunden ist (REICHENBACH-KLINKE, 1980).

Die wichtigsten Aufgaben der Plasmaproteine wurden von WUHRMANN und WUNDERLY (1962) folgendermaßen zusammengefaßt: Regulation

des kolloidosmotischen Druckes und damit des Wasserhaushaltes; Transport der Nährstoffe, der Hormone und anderer Stoffe; Abwehr von Infektionen mit Hilfe der Antikörper; Abtransport der Stoffwechselendprodukte der Zellen und Gewebe zu den Ausscheidungsorganen und Blutgerinnung. Da der Gesamteiweißwert von vielen Faktoren wie z.B. Jahreszeit, Alter, Sauerstoffgehalt des Wassers und Ernährung abhängig ist, ist festzustellen, daß die in der Literatur angegebenen Gesamteiweißwerte großen Schwankungen unterliegen.

LIEBMANN, OFFHAUS und RIEDMÜLLER (1960) konnten den höchsten Gesamteiweißwert im August und September feststellen, während das Minimum im Frühjahr war. Sie stellten auch fest, daß der Gesamteiweißwert bei Hungertieren abgebaut wurde.

DOMBROWSKI (1953) gab für gesunde Karpfen einen Gesamteiweißwert von 1,9 bis 3,95 g% an, während FLEMMING (1958) einen Wert von 2,5 bis 2,9 g% feststellte. SORWATSCHEW (1957) ermittelte bei den gesunden Karpfen einen Wert von 3 - 4 g%. Er stellte während der Überwinterungsperiode einen Abfall des Eiweißgehaltes von 3,8 bis 4 g% (Oktober) auf 2,7 bis 2,8 g% (März) fest.

PANDEY (1974) gab für gesunde Karpfen einen Normalwert von 3,60 g% an.

C. Eigene Untersuchungen:

I. Material und Methodik:

1. Materialbeschaffung:

Von der Versuchsanlage der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung in Wielenbach sind mir einjährige Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio* L.) mit einem Durchschnittsgewicht von 38,80 g und einer Durchschnittslänge von 10,60 cm zur Verfügung gestellt worden. Die Fische befanden sich in gutem und gesundem Zustand. Sie wurden im Institut für Zoologie und Hydrobiologie in 750 l großen Steinbecken gehältert und gefüttert. Ein ständiger Zulauf

von Trinkwasser (12°C und ohne Chlorbelastung) ermöglichte eine gute Vorratshälterung der Karpfen. 14 Tage vor Versuchsbeginn sind die Fische an eine Wassertemperatur von 20°C adaptiert worden, die der Versuchstemperatur entsprach. Die Versuche selbst wurden in Arena-Durchstrombecken von 200 l Inhalt durchgeführt. Während der Versuchszeit von 6 Wochen wurden die Karpfen regelmäßig mit Pellets (2 % des Körpergewichts) weitergefüttert.

2. LC₅₀-Versuche:

Um die toxische Wirkung von Bayluscid^(R) zu erfassen sowie die LC₅₀-Werte für Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) unter den Versuchsbedingungen zu bestimmen und mit dem LC₅₀-Wert, der in der Literatur dargestellt ist, zu vergleichen, wurde die letale Konzentration (50 %) nach einer Methodenvorschrift des "Deutschen Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung - Der Fischtest" (Vom Wasser, Band 46, 1976) bestimmt. Die Versuchsfische wurden in 100 l Glasaquarien (10 Fische pro Becken) gehältert. Die Belüftung der Aquarien erfolgte über Pasteur-Pipetten 1 - 3 Blasen/sec. Der Sauerstoffgehalt des Wassers lag nicht unter 5 mg/l, die Wassertemperatur im Testversuch betrug 20°C.

Drei Tage vor Beginn der Untersuchung sind die Fische an die Versuchstemperatur akklimatisiert worden. Zwei Tage vor dem Test und während der Versuche wurde den Fischen das Futter entzogen. Die zu testende Lösung von Bayluscid^(R) aus jeweils neu angesetzter Stammlösung wurde in die Versuchsbecken pipettiert und mit dem Testwasser gut gemischt, ohne die Fische zu beunruhigen. Die Versuchszeit betrug 48 (und 96) h. Die Kontrollversuche wurden unter den gleichen Bedingungen durchgeführt. Jeweils nach 6, 12, 24 und 48 h wurde die Zahl der toten Fische ermittelt, Ausfälle wurden sofort entfernt.

Die Auswertung des Versuchs wurde anhand eines Wahrscheinlichkeitsnetzes vorgenommen, in dem die Konzentration der Bayluscid^(R) Lösung im Testwasser logarithmisch auf der Abszisse gegen die

Prozentzahl toter Fische auf der Ordinate aufgetragen wurde, durch Interpolation erhielt man den LC_{50} -Wert.

3. Versuchsanordnung:

Für die Bayluscidversuche wurden sog. Arena-Durchstrombecken (Abb. 1 u. 2) mit einem Fassungsvermögen von 200 l benutzt. Der Wasserzulauf wurde durch ein Rotameter bei allen Versuchen kontinuierlich auf 80 l/h eingestellt. Das Leitungswasser wurde durch Zumischen von Warmwasser auf eine Temperatur von 20°C erwärmt. Die Wassertemperatur wurde mehrmals am Tag kontrolliert. Eine ausreichende Sauerstoffkonzentration des Wassers von 8 mg/l wurde durch eine zusätzliche Belüftung gewährleistet. Die Stammlösungen wurden entsprechend der gewünschten Konzentration aus Bayluscid^(R) und Leitungswasser in 10 l-Ballons angesetzt und alle 12 Stunden erneuert. Durch eine Dosierpumpe wurde die Bayluscid^(R)-Stammlösung kontinuierlich in die Versuchsbecken zugegeben. Pro Molluskizidkonzentration wurden 2 Parallelversuche und 1 Kontrollversuch (nur Leitungswasser) durchgeführt. Die Fische wurden erst dann in die Versuchsbecken eingesetzt, wenn das Wasser die vorgesehene Konzentration erreicht hatte. Sie wurden in den beiden Versuchsbecken täglich kontrolliert. Die Versuche wurden bei Bayluscidanteilen von 0,10 mg/l, 0,20 mg/l und 0,25 mg/l vorgenommen. Ihre Einstellung in Versuchsbecken erfolgte durch eine ausreichende Vermischung der Stammlösung mit dem Leitungswasser durch die Wasserströmung und die Belüftung, so daß in allen Bereichen des Versuchsbeckens die gleiche Konzentration herrschte.

Pro Versuchsbecken wurden 22 Fische eingesetzt und diese während der 6-wöchigen Versuchsdauer mehrere Male am Tage auf ihren Gesundheitszustand hin überprüft. Für die Blut- und Rückstandsuntersuchungen wurden im wöchentlichen Abstand jeweils 6 Fische dem Testbecken entnommen. Die Fische wurden nach der Betäubung mit MS-222 gewogen, gemessen und anschließend die Blut- und Organentnahme vorgenommen. In gleicher Weise wurde mit den Kontrollfischen verfahren, wobei hier pro Versuchsabschnitt nur 3 Fische zur Verfügung standen.

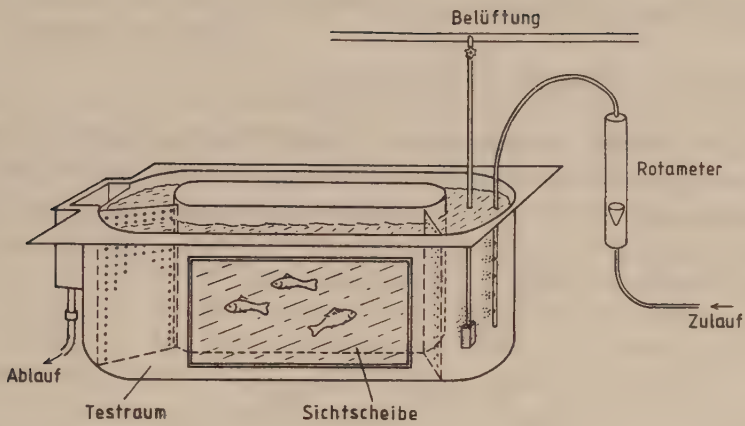


Abb. 1 Arena-Durchstrombecken

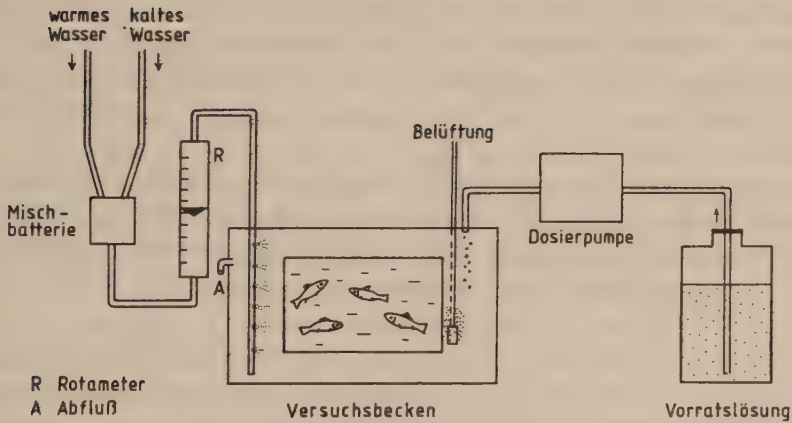
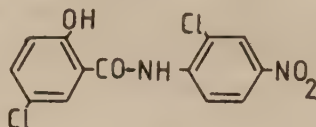


Abb. 2. Versuchsanlage

4. Untersuchungsmethoden:

a. Nachweis von Bayluscid^(R) im Wasser:

Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß man den Wirkstoff I (siehe unten) mit Zinn-II-Chlorid reduziert und mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlichs Reagenz) zu einem gelben Farbstoff umsetzt, der mit dem Spektralphotometer bei 460 nm gegen den Leerwert (Ehrlichs Reagenz) gemessen wird.



Wirkstoff I

Ausführung der Reaktion:

Die Wasserprobe wird mit 2n-Schwefelsäure vermischt. Durch Methylenchlorid wird Bayluscid^(R) aus dem Wasser herausgelöst und zur Abtrennung von Wasserspuren durch einen kleinen Faltenfilter in ein Becherglas filtriert. Das Becherglas wird anschließend in ein 60°C heißes Wasserbad gestellt, bis das Lösungsmittel vollständig verdampft ist. Dem Trockenrückstand wird ein Reagenzgemisch zugegeben, das aus p-Dimethylaminobenzaldehyd, Zinn-II-Chlorid, konz. Salzsäure und Methanol besteht. Man erwärmt diese Lösung genau 4 min in einem Wasserbad von 47°C. Bayluscid^(R) wird durch Zinn-II-Chlorid reduziert und mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlichs Reagenz) zu einem gelben Farbstoff umgesetzt. Das Reagenzgemisch wird ebenfalls als Blindwert benutzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Farbtintensität durch Messung der Extinktion bei 460 nm gegen den Blindwert bestimmt.

b. Labormethode zur Bestimmung von Bayluscid^(R) in den Organen
(Kiemen und Leber):

Etwa 1,5 g von den Kiemenlamellen bzw. 2,0 g von der Leber wurden mit Seesand und Natriumsulfat-Wasserfrei (Merck) in einer Pulverisette (Fritsch) zerrieben. Anschließend wurde das Gemisch auf eine Glassäule gegeben, in der bereits ein wenig Glaswolle und ca. 1 g Natriumsulfat-Wasserfrei eingefüllt worden waren. Um Bayluscid^(R) herauszulösen, wurden 100 ml Methylenchlorid auf das Gemisch in die Säule gegeben. Es dauerte ca. 12 h, bis die 100 ml Methylenchlorid durch die Säule durchgegangen waren und das Bayluscid^(R) herausgelöst wurde.

Mit Hilfe eines Abdampfgerätes (Rotavapor RE 120-Büchl) wurden die 100 ml Methylenchlorid-Bayluscid^(R) vollständig verdampft und der Rest in 10 ml Methylenchlorid gelöst. Davon wurden 5 ml in ein Becherglas filtriert und in ein Wasserbad bei 60°C gestellt, bis das Lösungsmittel vollständig verdampft war. Zu dem Trockenrückstand wurde das Reagenzgemisch (Ehrlichs Reagenz) zugegeben und in einem Wasserbad bei genau 47°C für 4 min gestellt. Nach Abkühlen der Proben auf Raumtemperatur wurde die vorhandene Farbtintensität durch Messung der Extinktion bei 460 nm gegen den Blindwert (Ehrlichs Reagenz) gemessen. Auf die gleiche Weise wurden auch die Organe der Kontrollfische gearbeitet.

Um den Matrixfaktor der Kiemenlamellen bzw. der Leber auszuschalten, wurden die Werte der Kontrollfische von den Mittelwerten der Versuchsfische abgezogen.

Die Berechnungen erfolgten nach folgenden Formeln:

Ext.d. = Ext.v - Ext.k,
Ext.d. = Extinktionsdifferenz
Ext.v = Extinktion (Versuchs-)
Ext.k = Extinktion (Kontrolle)

Die Ablesung der Konzentration in der Meßlösung erfolgte an der Eichkurve für Bayluscid^(R) (Abb. 3), die Umrechnung auf die Konzentration im Karpfenorgan nach:

$$XC = \frac{\mu g}{E \cdot g} = \mu g/g \text{ (NG.)}$$

E = Einwaage in g

C = Konzentration im Organ in $\mu g/g$

NG. = bezieht sich auf Naßgewicht.

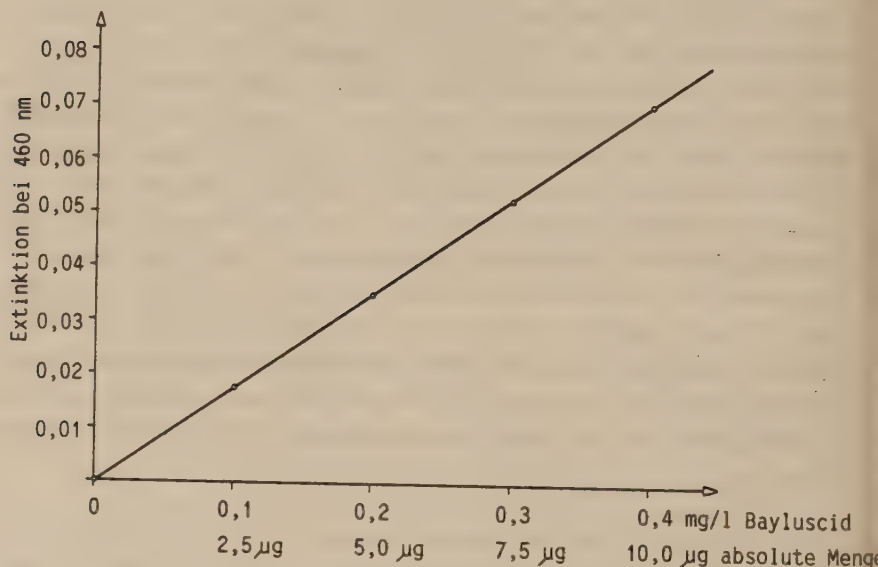


Abb.3 Bayluscid^(R)-Eichkurve

c. Genauigkeit der Methode zum Bayluscid^(R)-Nachweis in Karpfenorganen:

Die Genauigkeit der Methode zum Bayluscid^(R)-Nachweis in Karpfenorganen wurde mit Hilfe des Variationskoeffizienten kontrolliert. Dafür wurden 20 g Leber mit Bayluscid^(R) gemischt, so daß eine Konzentration von 5 µg/g vorlag. Das Gemisch wurde mit dem Ultraschall Homogenisator (Firma Braun, Melsungen) gut homogenisiert. 10 Proben des Homogenisats wurden eingewogen (Tab. 2) und gemäß der angegebenen Methode (siehe Methode 4.b.) extrahiert und gemessen. Der Variationskoeffizient (V %) wurde folgendermaßen ausgerechnet:

$$V \% = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100$$

S = Standardabweichung

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel

Probe	Einwaage in g.	Bayluscidkonz. (µg/g)
1	1,896	8,333
2	1,956	8,077
3	1,892	7,610
4	1,919	8,233
5	1,929	7,465
6	1,868	7,708
7	1,930	8,393
8	1,953	8,294
9	1,987	7,951
10	1,879	7,663

$$\bar{x} = 7,97$$

$$S = 0,34$$

$$V \% = \frac{0,340 \cdot 100}{7,97} = 4,26$$

Tab. 2 Einwaage und Bayluscid^(R)-Konzentration

d. Elimination von Bayluscid^(R) bei Versuchsfischen:

Um die Eliminationszeit bei den mit Bayluscid^(R) behandelten Fischen zu bestimmen, wurden Eliminationsversuche durchgeführt. Die Versuchsfische wurden bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l in sog. Arena-Durchstrombecken (siehe Versuchsanordnung) auf 20°C für 3 Wochen eingesetzt. Für die Rückstandsuntersuchungen wurden im wöchentlichen Abstand jeweils 6 Versuchsfische entnommen. Danach wurden die Versuchsfische in Leitungswasser auf 20°C umgesetzt, jedoch wurden die Rückstandsuntersuchungen am 1., 2. und 4. Tag vorgenommen.

5. Blutuntersuchungen:

Blutentnahme:

Um eine ausreichende Blutmenge zu erhalten, erfolgte die Blutentnahme durch Schwanzabschneiden. Die Fische wurden vorher in einer Lösung von MS-222 (SERVA, Heidelberg) betäubt. Bei MS-222 handelt es sich um ein gutes Narkosemittel für Kaltblüter, das im allgemeinen sehr gut von Fischen vertragen wird. Chemisch ist MS-222 ein Äthyl-m-Aminobenzoat. 10 g MS-222 wurden in 150 ml Aqua dest. gelöst. 1 ml dieser Stammlösung wurde auf 1 Liter Wasser weiterverdünnt (LEHMANN und STÜRENBERG, 1974). In dieser Lösung wurden Fische innerhalb von 2 - 3 min betäubt. Um einen etwaigen Temperaturschock zu vermeiden, war ihre Temperatur sowie die Versuchstemperatur 20°C.

Über den Einfluß der MS-222 Narkose auf die einzelnen Blutkomponenten berichteten WEDEMEYER (1970) sowie MOLNAR und TAMASSY (1970), die keine wesentlichen Veränderungen der Blutwerte feststellten. Nach der Betäubung der Fische wurden etwa 5 cm vom Schwanz abgeschnitten und 3 ml Blut gewonnen. Da die Zeit bis zur Gerinnung des Blutes ausreichte, um die einzelnen Bestimmungen durchzuführen, konnte auf gerinnungshemmende Mittel verzichtet werden. Es wurden folgende Blutuntersuchungen durchgeführt:

- a. Erythrozytenzahl (in Million)
- b. Hämatokritwert (in %/100 ml)
- c. Hämoglobingehalt (in g%)
- d. Gesamtbluteiweiß (in g%).

a. Erythrozytenzahl:

Mit der Erythrozytenpipette und Zählkammer (nach Neubauer) wurde die Erythrozytenzählung vorgenommen. Das Fischblut wurde bis zur Marke 0,5 der Erythrozytenpipette aufgezogen und dann mit Hayem'scher Lösung (Merck) bis zum Teilstrich 101 verdünnt und anschließend gut gemischt. 5 x 16 Quadrate der Zählkammer wurden für die Bestimmung der Erythrozytenzahl ausgezählt. Die Berechnung der Erythrozytenzahl erfolgte folgendermaßen:

$$\frac{\text{Gesamtzahl der gezählten Erythrozyten}}{\text{Ausgezählte Fläche} \times \text{Kammerhöhe} \times \text{Blutverdünnung}} = \text{Eryth.}/\text{mm}^3$$

b. Hämatokritwert:

Für die Hämatokritwertbestimmung stand die Mikro-Hämatokritzentrifuge (Universal II, Nr. 7-4458) mit einem Schleuderteller für 24 Proben zur Verfügung. Die heparinisierten Mikro-Hämatokritröhrchen (Ammonium-Heparin), Länge 75 mm, Außendurchmesser 1,5 mm und Innendurchmesser 1,1 mm, wurden zu 3/4 mit Fischblut gefüllt, das mit einer roten Marke gekennzeichnete Ende zugeschmolzen und bei 3000 Umdrehungen 10 min lang zentrifugiert. Pro Fisch wurden drei Hämatokritwerte bestimmt, um genauere Werte zu erhalten. Mit Hilfe eines Ablesegerätes (Firma Hettich) konnte eine schnelle Feststellung der prozentualen Verhältnisse der Erythrozyten zu Plasma erfolgen.

c. Hämoglobingehalt:

Die Bestimmung des Hämoglobins wurde nach der Cyano-Hämoglobin-Methode durchgeführt. Dabei werden Hämoglobin und Hämoglobin-Derivate durch Kaliumhexacyanoferrat und Kaliumcyanid in Hämoglobincyanid überführt.

0,02 ml Fischblut wurden in einer trockenen 20 μ l Pipette (Typ Sahli) bis zum Teilstrich aufgezogen und in 5 ml Transformationslösung (Hämoglobin-Fertigreagenz-Behring) gegeben und gut gemischt, wodurch eine Verdünnung von 1 : 251 erreicht wurde. Hämoglobin besitzt eine stabile Färbung, die anschließend nach mindestens 3 min bei +20°C bis +25°C mit dem Spektralphotometer (Beckmann DB) bei 540 nm gegen Hämoglobin-Fertigreagenz als Reagenzien-Leerwert gemessen werden kann. Mit Hilfe einer Cyano-hämoglobin-Standardlösung wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt, die die Aufstellung einer Eichkurve ermöglichte (Abb. 4). Aus dieser wurde der Hämoglobingehalt der Blutproben in g% abgelesen.

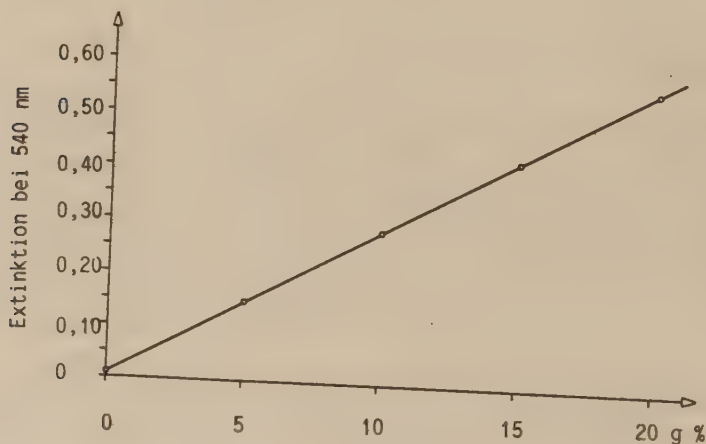


Abb.4 Hämoglobin-Eichkurve

d. Gesamtbluteiweiß:

Die Bestimmung von Gesamtbluteiweiß wurde nach der Biuretreaktion vorgenommen. Die Grundlage dieser Reaktion besteht darin, daß Proteine mit alkalischer, tartrathaltiger Kupfersulfat-Lösung (Biuret Reagenz) einen blauvioletten Farbkomplex bilden. 0,05 ml Fischserum wurden in ein Röhrchen mit 2,5 ml Biuretreagenz gegeben und sorgfältig gemischt. Nach einer Verweildauer von 30 min bei $+20^{\circ}\text{C}$ bis $+25^{\circ}\text{C}$ wurden die Proben gegen das Biuretreagenz als Reagenzien-Leerwert mit Spektralphotometer bei 546 nm gemessen.

Die Werte konnten aus einer Eichkurve (Abb. 5) abgelesen werden, die mit Hilfe einer Protein-Standard-Lösung (Testomar-Protein-Behring) durchgeführt worden ist.

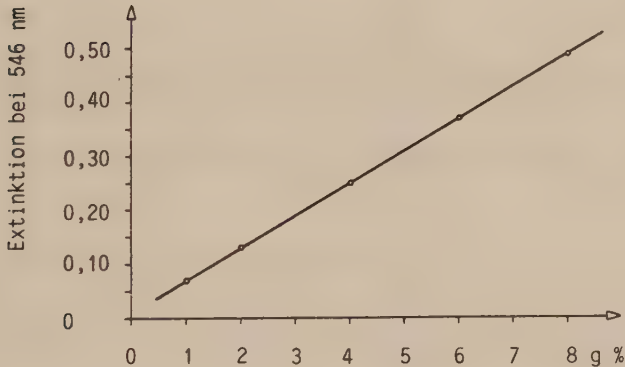


Abb. 5 Gesamteiweiß-Eichkurve

6. Fehlerberechnung und Signifikanzanalyse:

Als Variabilitätsmaß einer Meßergebnisreihe wurde die Standardabweichung gewählt (LEMBECK und WINNE, 1965).

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Zum Vergleich zweier, von einander unabhängigen Meßergebnisreihen wurde der "t-Test" nach Student (SACHS, 1974) durchgeführt, eine Zufallswahrscheinlichkeit von $P < 0,05$ galt als signifikant.

II. Ergebnisse:

1. LC₅₀-Wert von Bayluscid^(R) für Karpfen (*Cyprinus carpio* L.):

Die Zusammenfassung der Einzelheiten der Versuche sind aus Tab. 3 ersichtlich.

Durch die Darstellung der Versuchsergebnisse im Wahrscheinlichkeitsnetz wurde der LC₅₀-Wert von Bayluscid^(R) für Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) ermittelt. Der LC₅₀-Wert lag in meinem Versuch bei 0,252 mg/l Wasser/48 h (Abb. 6).

Becken Nr.	Bayluscid- Konzentrat. mg/l	Anzahl d.Fische	Anzahl d.lebend. Fische	Anzahl d.toten Fische	% der überlebenden Fische
1	0,234	10	9	1	90
2	0,254	10	4	6	40
3	0,259	10	0	10	0
4	Kontrolle	10	10	0	100

Tab. 3 Überlebensrate bei verschiedenen Konzentrationen von Bayluscid^(R)

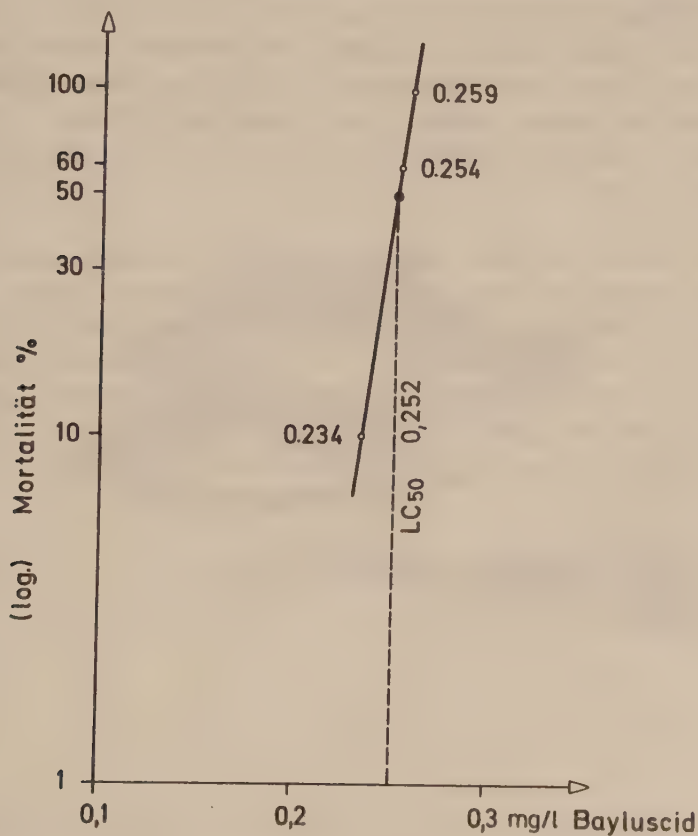


Abb. 6 Logarithmische Darstellung des LC_{50} -Wertes von Bayluscid^(R) beim Karpfen

2. Das klinische Verhalten der Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) unter Bayluscid^(R)-Einfluß:

Unter Bayluscid^(R) -Einfluß zeigten die Versuchsfische unterschiedliches Verhalten bei den verschiedenen Konzentrationen.

Versuchsfische, die bei den Konzentrationen unter dem LC₅₀-Wert (0,10 mg/l und 0,20 mg/l Wasser) eingesetzt wurden, zeigten nach dem Bayluscid^(R)-Einsatz eine starke Anfangsunruhe, Überempfindlichkeit, unkoordinierte Schwimmbewegungen und schnelle Atembewegungen.

Bei der Konzentration von 0,25 mg/l Wasser, die dem LC₅₀-Wert entsprach, zeigten die Fische außer den vorgegebenen Erscheinungen torkelnde Schwimmbewegungen, einige von ihnen starben innerhalb der ersten Stunden. Gleich nach dem Tod war viel Schleim auf der Haut zu sehen und die Kiemen waren dunkelrot gefärbt.

Bei Dosierungen von 0,20 mg/l und 0,25 mg/l zeigten einige der Versuchsfische 3-4 Tage nach Bayluscid^(R)-Einsatz weiße Flecken und Nekrose auf der Schwanzflosse und Afterflosse (Abb. 7). Es war auch allgemein bei jeder Konzentration zu beobachten, daß der Appetit der Versuchsfische während der ersten Stunden nachließ, jedoch holten sie sich später alles Futter an der Wasseroberfläche und hinterließen keine Futterreste.

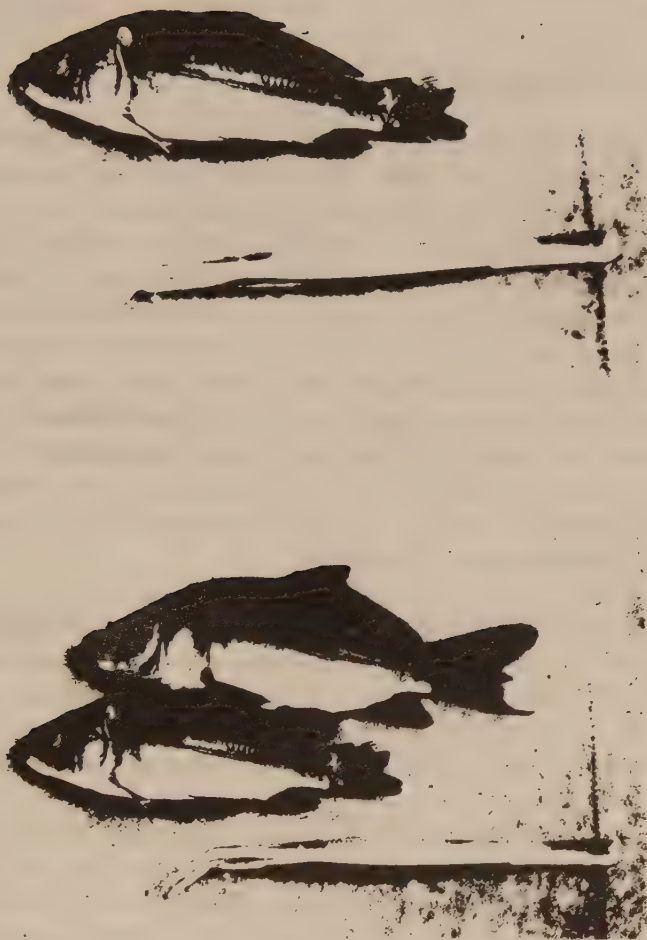


Abb. 7 Durch Bayluscid^(R) verursachte Schwanznekrose
in verschiedenen Stadien.

3. Das Blutbild der Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) unter Bayluscid^(R)-Einfluß:

a. Die Erythrozytenzahl:

Die Ergebnisse der Erythrozytenzahlen bei verschiedenen Bayluscid^(R)-Konzentrationen sind in Tab. (4 - 6) zusammengestellt und in Abb. (8 - 10) schematisch dargestellt.

Aus diesen Tabellen ist zu ersehen, daß die Erythrozytenzahl bei den verschiedenen Bayluscid^(R)-Konzentrationen mit dem Versuchsbeginn ansteigt, um dann nach einer Woche das Maximum zu erreichen. Dabei wird die mittlere Erythrozytenzahl der Kontrollfische signifikant überschritten ($P < 0,05$). Nach diesem Maximum kommt es zu einem Abfall der Erythrozytenzahlen, die aber noch den Normalwert der Kontrollfische nicht unterschritten, sie sind aber statistisch nicht signifikant. Die Bewegung der Erythrozytenzahl konnte bei allen verwendeten Bayluscid^(R)-Konzentrationen beobachtet werden.

Vergleicht man nun die Gesamtzahl der Erythrozyten der Kontrollfische mit denen der Versuchsfische, so steigen die Werte bei Bayluscid^(R)-Konzentration von 0,10 mg/l im Zeitraum von 6 Wochen (Versuchsdauer) von 1,71 Millionen/mm³ Blut bei den Kontrollfischen auf 1,79 Millionen/mm³ Blut bei den Versuchsfischen an.

Bei der Konzentration von 0,20 mg/l von 1,74 Millionen/mm³ bei Kontrollfischen auf 1,81 Millionen/mm³ Blut bei den Versuchsfischen und bei Konzentration von 0,25 mg/l von 1,653 Millionen/mm³ Blut bei den Kontrollfischen auf 1,80 Millionen/mm³ Blut bei Versuchsfischen.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	1,90 $\pm$ 0,07 *	1,72 $\pm$ 0,08
2	1,82 $\pm$ 0,06 n.s	1,72 $\pm$ 0,09
3	1,76 $\pm$ 0,12 n.s	1,73 $\pm$ 0,04
4	1,76 $\pm$ 0,14 n.s	1,71 $\pm$ 0,14
5	1,78 $\pm$ 0,12 n.s	1,70 $\pm$ 0,05
6	1,77 $\pm$ 0,07 n.s	1,70 $\pm$ 0,05

Tab. 4 Errechnete Mittelwerte der Erythrozytenzahl in Mio. der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	1,90 $\pm$ 0,07 *	1,74 $\pm$ 0,05
2	1,76 $\pm$ 0,06 n.s	1,73 $\pm$ 0,07
3	1,81 $\pm$ 0,12 n.s	1,74 $\pm$ 0,09
4	1,80 $\pm$ 0,11 n.s	1,73 $\pm$ 0,10
5	1,80 $\pm$ 0,06 n.s	1,74 $\pm$ 0,02
6	1,81 $\pm$ 0,09 n.s	1,74 $\pm$ 0,05

Tab. 5 Errechnete Mittelwerte der Erythrozytenzahl in Mio. der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	1,96 $\pm$ 0,19 *	1,66 $\pm$ 0,03
2	1,91 $\pm$ 0,30 n.s	1,65 $\pm$ 0,01
3	1,73 $\pm$ 0,26 n.s	1,66 $\pm$ 0,02
4	1,67 $\pm$ 0,27 n.s	1,65 $\pm$ 0,04
5	1,65 $\pm$ 0,05 n.s	1,65 $\pm$ 0,04
6	1,66 $\pm$ 0,05 n.s	1,65 $\pm$ 0,04

Tab. 6 Errechnete Mittelwerte der Erythrozytenzahl in Mio. der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l.

Die Werte sind angegeben in Mittelwerten $\pm$ Standardabweichung.

Signifikanzangaben (Tab. 4 - 6):

- ** : signifikanter Unterschied mit $P < 0,01$
 * : signifikanter Unterschied mit $P < 0,05$
 n.s : nicht signifikant $P > 0,05$.

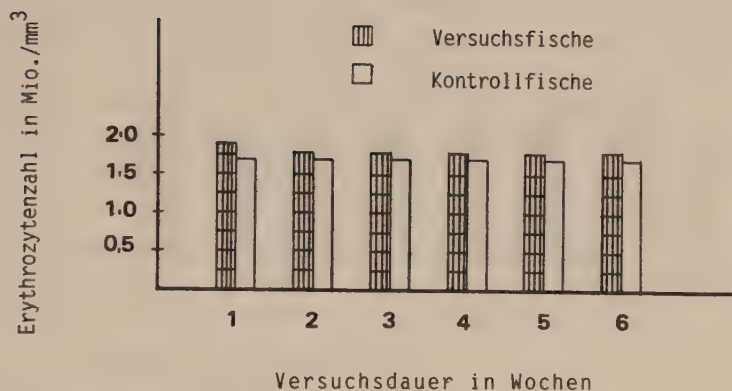


Abb. 8 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Erythrozytenzahl in Mio. bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

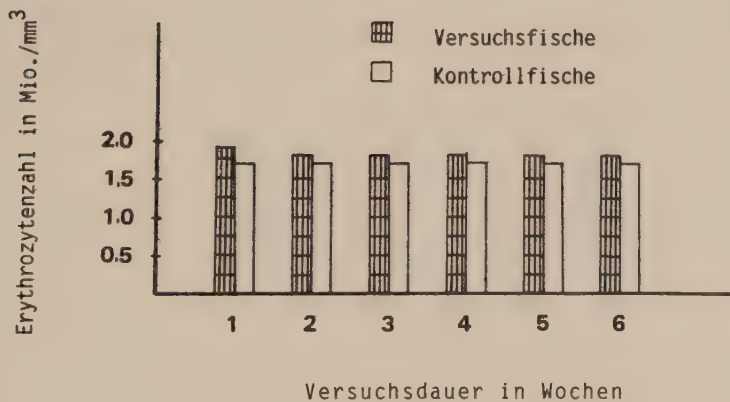


Abb. 9 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Erythrozytenzahl in Mio. bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

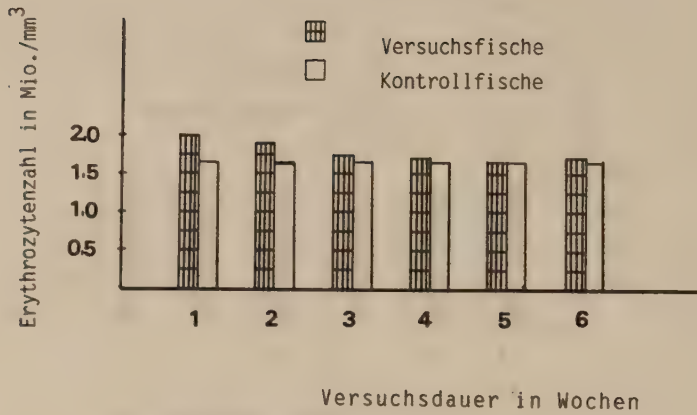


Abb.10 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Erythrozytenzahl in Mio. bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l

b. Der Hämatokrit:

Der Hämatokrit, der das Volumen der Erythrozyten in 100 ml Blut angibt, dient dazu, Wasserverschiebungen zwischen dem Plasma und den Erythrozyten sowie zwischen Blut und extravasalem Flüssigkeitsraum festzustellen. Jede Bestimmung des Hämatokrits für je Kontroll- und Versuchsfisch erfolgte dreifach. Aus den erhaltenen Werten wurde das arithmetische Mittel errechnet.

Die nun folgenden Tabellen (7 - 9) und Abbildungen (11 - 13) stellen die Hämatokritwerte der Kontroll- und Versuchsfische dar. Die in diesen Tabellen zusammengestellten Werte des Hämatokrits erreichen ebenso wie die Erythrozytenzahl nach einer Woche das Maximum, wonach es dann zu einem Abfall innerhalb des Normalbereiches der Kontrollfische kommt. Vergleicht man nun den Hämatokritwert der Kontrollfische mit dem der Versuchsfische bei den verschiedenen Bayluscid^(R)-Konzentrationen, so steigt der Hämatokritwert bei der Konzentration von 0,10 mg/l von 38,0 % bei den Kontrollfischen auf 38,5 % bei den Versuchsfischen an. Bei Konzentrationen von 0,20 mg/l und 0,25 mg/l steigen die Hämatokritwerte von 37,6 % und 37,27 % bei den Kontrollfischen auf 38,6 % und 38,42 % bei den Versuchsfischen an.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	39,2 $\pm$ 0,90 *	37,5 $\pm$ 0,50
2	38,0 $\pm$ 1,32 n.s	37,8 $\pm$ 1,76
3	38,7 $\pm$ 1,15 n.s	38,3 $\pm$ 1,04
4	38,4 $\pm$ 1,36 n.s	38,2 $\pm$ 1,26
5	38,4 $\pm$ 1,11 n.s	38,2 $\pm$ 0,30
6	38,1 $\pm$ 1,02 n.s	38,0 $\pm$ 0,50

Tab. 7 Errechnete Mittelwerte der Hämatokritwerte in % 100 ml Blut der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	39,4 $\pm$ 1,10 *	37,7 $\pm$ 0,29
2	38,3 $\pm$ 1,47 n.s	37,3 $\pm$ 2,10
3	38,3 $\pm$ 1,25 n.s	37,7 $\pm$ 1,20
4	38,7 $\pm$ 1,50 n.s	36,7 $\pm$ 2,30
5	38,8 $\pm$ 1,44 n.s	38,2 $\pm$ 0,76
6	38,1 $\pm$ 1,63 n.s	37,7 $\pm$ 0,76

Tab. 8 Errechnete Mittelwerte der Hämatokritwerte in % 100 ml Blut der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	39,0 $\pm$ 0,75 *	37,6 $\pm$ 1,16
2	39,1 $\pm$ 2,10 n.s	37,5 $\pm$ 0,50
3	38,7 $\pm$ 1,50 n.s	36,8 $\pm$ 1,04
4	38,1 $\pm$ 1,62 n.s	37,2 $\pm$ 0,76
5	37,5 $\pm$ 0,89 n.s	37,0 $\pm$ 1,32
6	38,1 $\pm$ 0,66 n.s	37,5 $\pm$ 0,50

Tab. 9 Errechnete Mittelwerte der Hämatokritwerte in % 100 ml Blut der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l.

Die Werte sind angegeben in $\bar{x} \pm S_x$.

Signifikanzangaben (Tab. 7 - 9):

- ** : signifikanter Unterschied mit $P < 0,01$
 * : signifikanter Unterschied mit $P < 0,05$
 n.s : nicht signifikant $P > 0,05$.

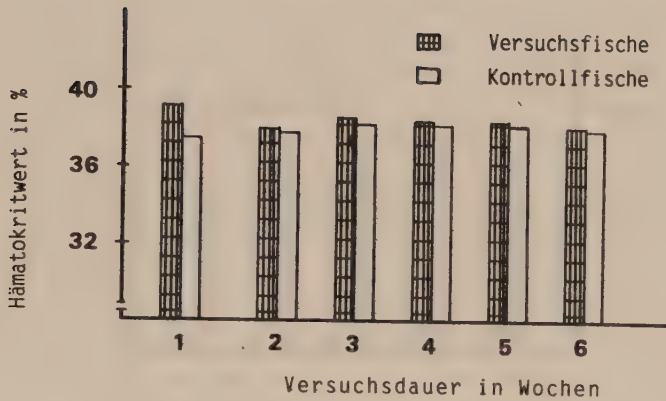


Abb. 11 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämatokritwerte in % 100 ml Blut bei Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

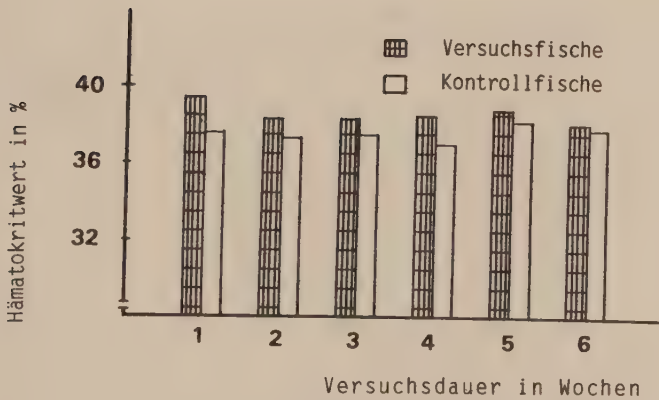


Abb. 12 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämatokritwerte in % 100 ml Blut bei Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

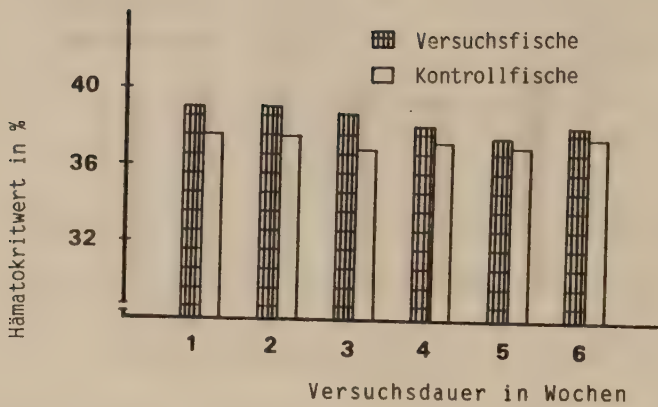


Abb. 13 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämatokritwerte in % 100 ml Blut bei Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l

c. Das Hämoglobin:

Die Erythrozytenanzahl gibt nicht allein Auskünfte darüber, wieviel Hämoglobin im Blut vorhanden ist, sondern die Hämoglobinmenge kann sich bei gleichbleibender Erythrozytenzahl auch erhöhen. Deshalb war es notwendig, auch die Bestimmung des Hämoglobingehaltes in die Untersuchungen mit einzubeziehen. Die Hämoglobinwerte der Versuchsfische und der Kontrollfische sind in Tab. (10 - 12) zusammengestellt und in Abb. (14 - 16) schematisch dargestellt. Aus diesen Tabellen ist festzustellen, daß es bei diesen Werten eine Übereinstimmung im Verlauf mit den Erythrozytenwerten der Versuchsfische gibt. Es ist auch zu ersehen, daß der Unterschied zwischen den Hämoglobinwerten der Versuchsfische und der Kontrollfische nach einer Woche noch statistisch signifikanter als der Unterschied zwischen den Erythrozytenzahlen der Versuchs- und Kontrollfische in demselben Zeitraum der Untersuchung ($P < 0,01$) ist. Aus den Werten des Hämoglobingehaltes der Versuchs- und Kontrollfische wurde der Hämoglobingehalt pro Erythrozyt errechnet, Tab. (13 - 15) und Abb. (17 - 19). Dabei wird der mittlere Hämoglobinwert der Kontrollfische in der ersten Woche signifikant überschritten ($P < 0,01$).

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	8,98 $\pm$ 0,40 **	7,87 $\pm$ 0,47
2	8,22 $\pm$ 0,62 n.s	7,80 $\pm$ 0,40
3	8,12 $\pm$ 0,61 n.s	7,77 $\pm$ 0,40
4	8,05 $\pm$ 0,85 n.s	7,77 $\pm$ 0,55
5	8,15 $\pm$ 0,70 n.s	7,73 $\pm$ 0,40
6	8,00 $\pm$ 0,41 n.s	7,63 $\pm$ 0,32

Tab. 10 Errechnete Mittelwerte des Hämoglobingehaltes in % der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	9,47 $\pm$ 0,50 **	8,10 $\pm$ 0,36
2	8,53 $\pm$ 0,21 n.s	8,07 $\pm$ 0,60
3	8,60 $\pm$ 0,73 n.s	8,13 $\pm$ 0,51
4	8,53 $\pm$ 0,60 n.s	8,07 $\pm$ 0,60
5	8,47 $\pm$ 0,15 n.s	8,17 $\pm$ 0,35
6	8,48 $\pm$ 0,51 n.s	8,10 $\pm$ 0,36

Tab. 11 Errechnete Mittelwerte des Hämoglobingehaltes in g% der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	9,90 $\pm$ 0,96 **	7,80 $\pm$ 0,06
2	9,20 $\pm$ 1,35 n.s	7,70 $\pm$ 0,20
3	8,10 $\pm$ 0,95 n.s	7,70 $\pm$ 0,30
4	7,90 $\pm$ 0,75 n.s	7,53 $\pm$ 0,40
5	7,87 $\pm$ 0,34 n.s	7,63 $\pm$ 0,35
6	7,83 $\pm$ 0,50 n.s	7,60 $\pm$ 0,30

Tab. 12 Errechnete Mittelwerte des Hämoglobingehaltes in g/100 ml Blut der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l.

Die Werte sind angegeben in $\bar{x} \pm S_x$.

Signifikanzangaben (Tab. 10 - 12):

- ** : signifikanter Unterschied mit $P < 0,01$
 * : signifikanter Unterschied mit $P < 0,05$
 n.s : nicht signifikant $P > 0,05$.

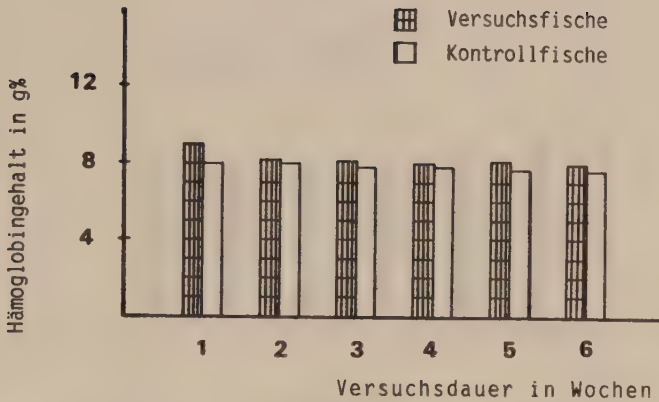


Abb. 14 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämoglobinwerte in g% bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

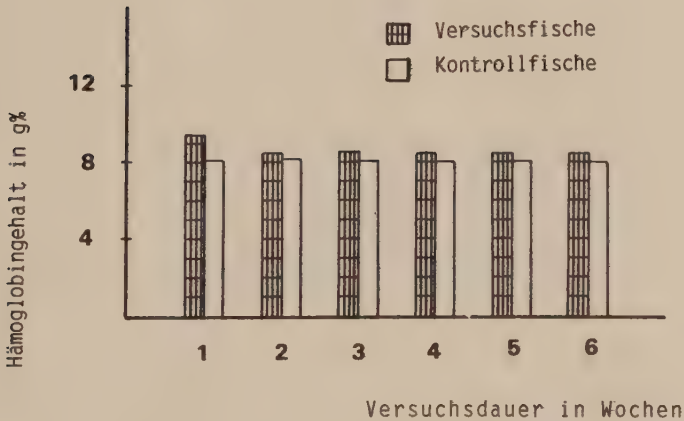


Abb. 15 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämoglobinwerte in g% bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

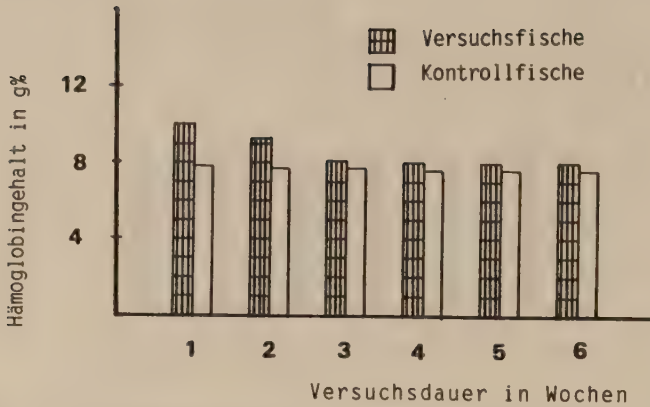


Abb. 16 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämoglobinwerte in g% bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	4,77 $\pm$ 0,08**	4,57 $\pm$ 0,06
2	4,56 $\pm$ 0,21n.s	4,53 $\pm$ 0,05
3	4,61 $\pm$ 0,06n.s	4,48 $\pm$ 0,16
4	4,58 $\pm$ 0,29n.s	4,54 $\pm$ 0,05
5	4,57 $\pm$ 0,11n.s	4,57 $\pm$ 0,13
6	4,51 $\pm$ 0,08n.s	4,50 $\pm$ 0,07

Tab. 13 Errechnete Mittelwerte des Hämoglobingehaltes pro Erythrozyt in $g \times 10^{-11}$ der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	5,02 $\pm$ 0,11**	4,70 $\pm$ 0,08
2	4,84 $\pm$ 0,07n.s	4,67 $\pm$ 0,17
3	4,75 $\pm$ 0,11n.s	4,68 $\pm$ 0,06
4	4,77 $\pm$ 0,07n.s	4,65 $\pm$ 0,09
5	4,70 $\pm$ 0,11n.s	4,68 $\pm$ 0,15
6	4,69 $\pm$ 0,06n.s	4,65 $\pm$ 0,07

Tab. 14 Errechnete Mittelwerte des Hämoglobingehaltes pro Erythrozyt in $g \times 10^{-11}$ der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	5,03 $\pm$ 0,11 **	4,67 $\pm$ 0,05
2	4,82 $\pm$ 0,29 n.s	4,68 $\pm$ 0,09
3	4,69 $\pm$ 0,23 n.s	4,63 $\pm$ 0,17
4	4,74 $\pm$ 0,27 n.s	4,57 $\pm$ 0,18
5	4,76 $\pm$ 0,13 n.s	4,62 $\pm$ 0,10
6	4,72 $\pm$ 0,17 n.s	4,59 $\pm$ 0,07

Tab. 15 Errechnete Mittelwerte des Hämoglobingehaltes pro Erythrozyt in $g \times 10^{-11}$ der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l.

Die Werte sind angegeben in $\bar{x} \pm S_x$.

Signifikanzangaben (Tab. 13 - 15):

- ** : signifikanter Unterschied mit $P < 0,01$
 * : signifikanter Unterschied mit $P < 0,05$
 n.s : nicht signifikant $P > 0,05$.

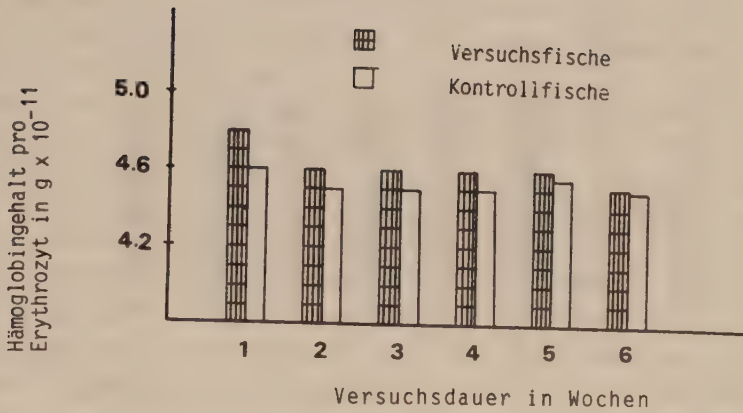


Abb. 17 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämoglobinwerte pro Erythrozyt in $g \times 10^{-11}$ bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

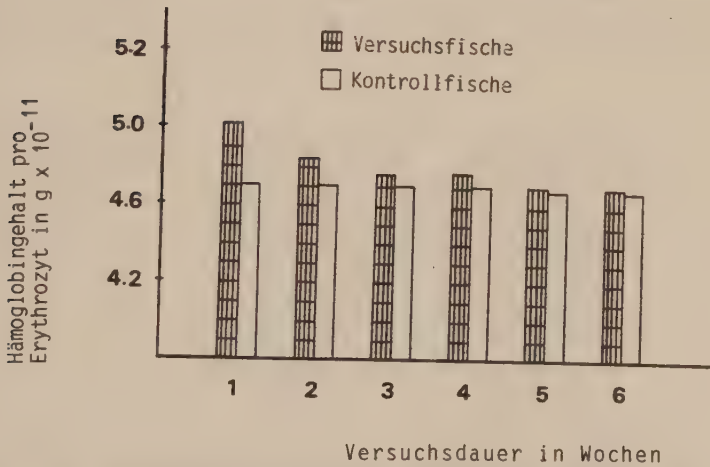
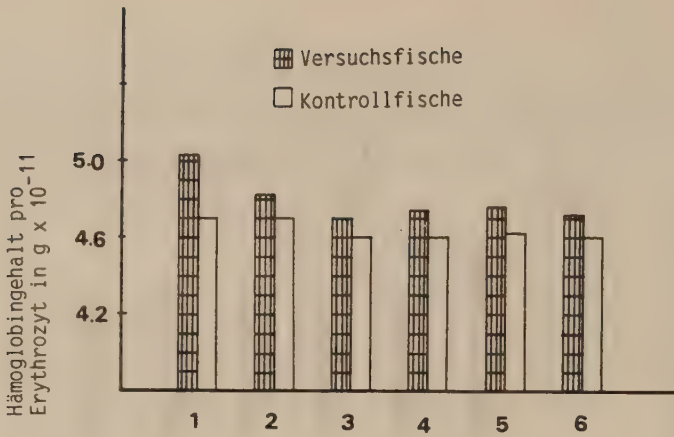


Abb. 18 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämoglobinwerte pro Erythrozyt in $g \times 10^{-11}$ bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.



Versuchsdauer in Wochen

Abb. 19 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Hämoglobinwerte pro Erythrozyt in $\text{g} \times 10^{-11}$ bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mb/l.

d. Das Gesamteiweiß:

Da die Bestimmung des Eiweißgehaltes für die Beurteilung des Gesamt-Gesundheitszustandes eine ganz besondere Rolle spielt, wurde der Eiweißgehalt des Kontroll- und Versuchsfische nach der Biuretreaktion bestimmt.

Die Werte des Gesamteiweißgehaltes der Kontrollfische und der mit Bayluscid^(R) behandelten Fische sind in Tab. (20 - 22) zusammengestellt und in Abb. (16 - 18) schematisch dargestellt. Es ist aus diesen Tabellen zu ersehen, daß die Mittelwerte des Gesamteiweißgehaltes der Versuchsfische eine sehr leichte Erhöhung im Vergleich zu den Mittelwerten der Kontrollfische bei allen Bayluscid^(R)-Konzentrationen zeigen, es liegt aber eine statistische Signifikanz zwischen den Kontrollfischen und den Versuchsfischen nicht vor. Vergleicht man nun den Gesamteiweißgehalt der Kontrollfische mit dem der Versuchsfische bei Bayluscid^(R)-Konzentrationen von 0,10, 0,20 und 0,25 mg/l, so sind die Gesamteiweißwerte der Kontrollfische 2,80 g%, 2,71 g% und 2,73 g%, während die Gesamteiweißwerte der Versuchsfische bei 2,91 g%, 2,81 g% und 2,81 g% lagen. Aus diesen Angaben ist festzustellen, daß nur eine geringe Differenz zwischen den Werten besteht.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	2,87 $\pm$ 0,25 n.s	2,77 $\pm$ 0,14
2	2,88 $\pm$ 0,18 n.s	2,78 $\pm$ 0,03
3	2,87 $\pm$ 0,35 n.s	2,77 $\pm$ 0,10
4	2,89 $\pm$ 0,10 n.s	2,78 $\pm$ 0,06
5	2,87 $\pm$ 0,10 n.s	2,80 $\pm$ 0,09
6	2,81 $\pm$ 0,12 n.s	2,77 $\pm$ 0,08

Tab. 16 Errechnete Mittelwerte der Gesamteiweißwerte in g/100 ml der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	2,81 $\pm$ 0,15 n.s	2,72 $\pm$ 0,03
2	2,81 $\pm$ 0,07 n.s	2,70 $\pm$ 0,05
3	2,82 $\pm$ 0,12 n.s	2,72 $\pm$ 0,06
4	2,81 $\pm$ 0,17 n.s	2,73 $\pm$ 0,03
5	2,82 $\pm$ 0,26 n.s	2,70 $\pm$ 0,16
6	2,81 $\pm$ 0,12 n.s	2,70 $\pm$ 0,09

Tab. 17 Errechnete Mittelwerte der Gesamteiweißwerte in g/100 ml der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

Versuchsdauer in Wochen	Versuchsfische (n = 6)	Kontrollfische (n = 3)
1	2,80 $\pm$ 0,22 n.s	2,73 $\pm$ 0,13
2	2,85 $\pm$ 0,17 n.s	2,75 $\pm$ 0,05
3	2,81 $\pm$ 0,21 n.s	2,72 $\pm$ 0,20
4	2,82 $\pm$ 0,21 n.s	2,70 $\pm$ 0,14
5	2,80 $\pm$ 0,06 n.s	2,77 $\pm$ 0,11
6	2,76 $\pm$ 0,09 n.s	2,70 $\pm$ 0,09

Tab. 18 Errechnete Mittelwerte der Gesamteiweißwerte in g/100 ml der Kontroll- und Versuchsfische bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 ml/l.

Die Werte sind angegeben in $\bar{x} \pm S_x$.

Signifikanzangaben (Tab. 16 - 18):

** : signifikanter Unterschied mit $P < 0,01$

* : signifikanter Unterschied mit $P < 0,05$

n.s : nicht signifikant $P > 0,05$.

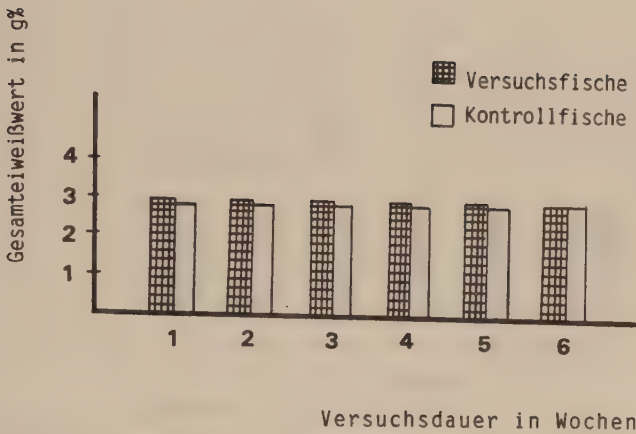


Abb. 20 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Gesamteiweißwerte in g% bei einer Bayluscidkonzentration von 0,10 mg/l.

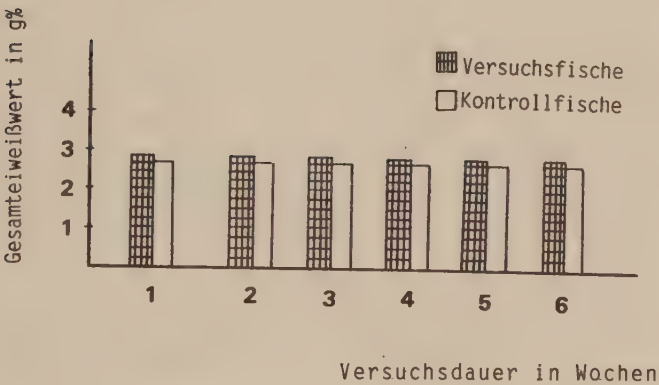


Abb. 21 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Gesamteiweißwerte in g% bei einer Bayluscidkonzentration von 0,20 mg/l.

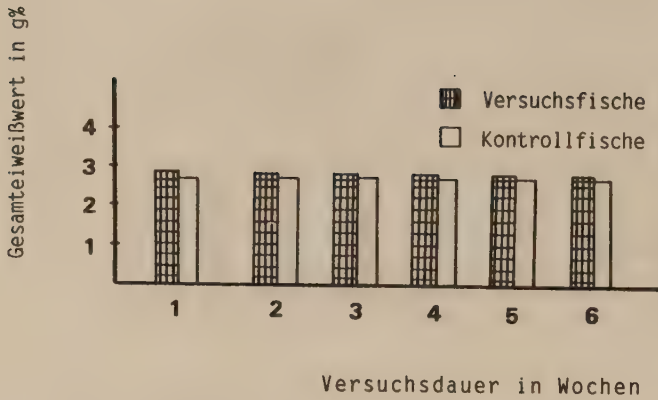


Abb. 22 Schematische Darstellung der durchschnittlichen Gesamteiweißwerte in g% bei einer Bayluscidkonzentration von 0,25 mg/l.

4. Ergebnisse der Untersuchung auf Bayluscid^(R)-Rückstände in Karpfenorganen (Kiemen und Leber):

Die Untersuchungen über die Bayluscid^(R)-Rückstände wurden an Kiemen (Kiemenlamellen) und Leber der Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) durchgeführt. Da die Größe und das Gewicht der Versuchsfische sowie der Kontrollfische zu klein waren, um eine ausreichende Organmasse (2,0 g Leber und 1,5 g Kiemenlamellen) für die Bestimmung zu erhalten, wurden die Leber sowie die Kiemenlamellen der Versuchsfische (6 Fische) gepoolt. Die Bestimmung von Bayluscid^(R)-Rückständen in Leber bzw. Kiemenlamellen erfolgte zweifach. Aus den erhaltenen Werten wurde das arithmetische Mittel errechnet. Auf die gleiche Weise wurden die Organe der Kontrollfische (3 Fische) gepoolt und aufgearbeitet, jedoch konnte nur eine Bestimmung vorgenommen werden.

Die Versuchsergebnisse zeigten einen Anstieg der Bayluscid^(R)-Rückstände in den beiden untersuchten Organen. Während das Maximum der Bayluscid^(R)-Rückstände (6,6 µg/g Kiemenlamellen und 38,4 µg/g Leber) bei der Konzentration von 0,25 mg/l nach 2 Wochen vom Versuchsbeginn erreicht wurde, wurde das Maximum der Bayluscid^(R)-Rückstände bei Konzentrationen von 0,10 und 0,20 mg/l 5,0 µg/g Kiemenlamellen und 28,2 µg/g Leber bei 0,10 mg/l und 5,8 µg/g Kiemenlamellen und 34,5 µg/g Leber bei 0,20 mg/l Bayluscid^(R) nach 3 Wochen erreicht.

Nach 3 Wochen zeigten die Versuchsergebnisse einen langsamen Abfall bis zu dem Versuchsende (6. Woche). Während am Versuchsende bei Bayluscidkonzentrationen von 0,10, 0,20 und 0,25 mg/l im Wasser die Werte der Bayluscid^(R)-Rückstände in den Kiemenlamellen 2,6, 3,2 und 4,0 µg/g betrugen, lagen die Bayluscid^(R)-Rückstände in der Leber bei 16,2, 22,3 und 28,2 µg/g.

Die gemessenen Bayluscid^(R)-Rückstände in den Kiemenlamellen und der Leber der Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) sind in Tab. (19 u.20) zusammengestellt und in Abb. (23 u.24) dargestellt.

Bayluscid- konzentra- tion mg/l im Wasser	Versuchsdauer in Wochen					
	1	2	3	4	5	6
0,10	2,6	4,3	5,0	4,5	3,0	2,6
0,20	4,3	5,4	5,8	5,6	4,5	3,2
0,25	5,8	6,6	6,5	5,8	4,8	4,0

Tab. 19 Bayluscidrückstände ($\mu\text{g/g NG}$) in Kiemenlamellen der Versuchsfische.

Bayluscid- konzentra- tion mg/l im Wasser	Versuchsdauer in Wochen					
	1	2	3	4	5	6
0,10	13,3	24,8	28,2	25,9	19,6	16,2
0,20	19,1	30,6	34,5	31,0	27,5	22,3
0,25	28,8	38,4	38,0	34,8	30,6	28,2

Tab. 20 Bayluscidrückstände ($\mu\text{g/g NG}$) in der Leber der Versuchsfische.

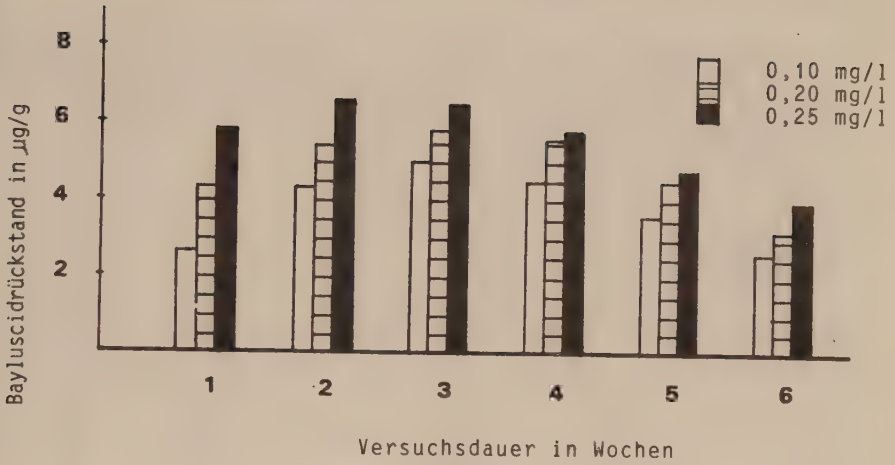


Abb. 23 Rückstände von Bayluscid^(R) in den Kiemenlamellen der Karpfen.

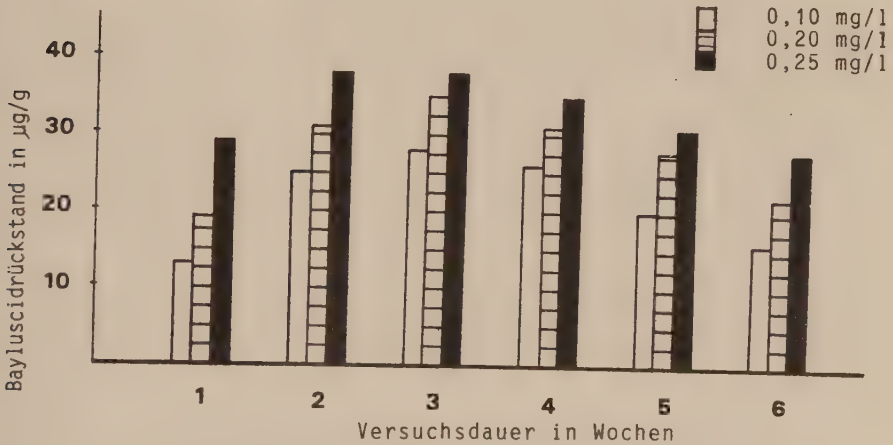


Abb. 24 Rückstände von Bayluscid^(R) in der Leber der Karpfen.

5. Elimination von Bayluscid^(R) bei Versuchsfischen:

Die Versuchsergebnisse zeigten eine auffallend schnelle Eliminierung der Bayluscid^(R)-Rückstände aus den Karpfenorganen (Kiemenlamellen und Leber). Die gemessenen Werte sind in Tab. (21) zusammengestellt.

Dauer in Tagen	Organ	
	Kiemen	Leber
Start	5,80	34,50
1	0,50	6,00
2	0,00	1,00
4	0,00	0,00

Tab. 21 Elimination von Bayluscid^(R) bei Versuchsfischen;
Konzentrationsangabe in $\mu\text{g/g}$ NG.

D. Diskussion

Die Bekämpfung der in den tropischen Ländern wichtigen Parasitenkrankheiten wie z.B. Bilharziose wird heute vor allem durch die Vernichtung der Zwischenwirte mit Hilfe von Molluskiziden durchgeführt. Diese Substanzen werden in den Anwendungsgebieten direkt ins Wasser eingebracht. Dabei wirken sie nur wenig spezifisch, so daß in den meisten Fällen mit einer Schädigung der Ökosysteme gerechnet werden muß. SCHRAUFFSTÄTTER (1962) berichtete darüber, daß die vorläufige Anwendung von Bayluscid^(R), Kupfersulfat und Pentachlorphenol nicht befriedigt habe. Während das Bayluscid^(R) schon mit einer Konzentration von 1 - 2 mg/l im Wasser die Schnecken sowie Schneckenlaich abtötet, sind die Aufwandmengen mit 20 mg/l für das Kupfersulfat und mit 10 mg/l für das Pentachlorphenol relativ hoch. Ferner hat das Kupfersulfat den Nachteil, daß es nicht gegen Schneckenlaich wirkt, während das Pentachlorphenol in toxikologischer Hinsicht bedenklich ist. Als Molluskizid eignet sich Bayluscid^(R) hervorragend zur Bekämpfung von Wasserschnecken, die als Zwischenwirte bei der Schistosomiasis, bei der Fasciolose und anderen Trematoden-Erkrankungen eine wichtige Rolle spielen. Als nachteilig für Bayluscid^(R) ist die fischtoxische Wirkung bei der zur Schneckenvernichtung erforderlichen Konzentration (1 - 2 mg/l) innerhalb der ersten Stunden nach dem Einsatz anzusehen.

FOSTER (1962) berichtete nach seiner Untersuchung in Nairobi über die toxischen Auswirkungen von Bayluscid^(R) bei einer Konzentration von 1 mg/l in einem Zeitraum von 12 h für den Fischbestand.

Nach den Untersuchungen von GILLET und BRUAUX (1962) in der Republik Kongo, und WEBBE (1962) in Tanganjika, wurden zahlreiche Fischsterben innerhalb 24 h nach dem Bayluscis^(R)-Einsatz bei einer Konzentration von 1,50 mg/l beobachtet.

Im März 1972 wurde das ägyptisch-deutsche Partnerschaftsprojekt in der Großoase "El - Fayoum" nach 3-jähriger Dauer erfolgreich abgeschlossen. Mit diesem Versuch in einem Gebiet, das von 1,2 Millionen Menschen bewohnt wird, sollte nachgewiesen werden, daß eine der gefürchtetsten Tropenkrankheiten, die Bilharziose, bezwungen werden kann. Dabei wurden die Auswirkungen von Bayluscid^(R) auf die anderen Wasserlebewesen, einschließlich der Fische, nicht untersucht und berücksichtigt. In dieser Arbeit wurde nun die toxische Auswirkung von Bayluscid^(R) auf einen Vertreter der Süßwasserfische, den Karpfen (*Cyprinus carpio* L.), der in subtropischen Ländern wie z.B. Ägypten gezüchtet wird, untersucht.

Um die toxische Wirkung von Bayluscid^(R) zu erfassen und mit dem LC₅₀-Wert für Karpfen nach MARKING und HOGAN (1967) zu vergleichen, wurde zu Beginn der Untersuchungen der LC₅₀-Wert ermittelt. Der LC₅₀-Wert für Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) lag in meinem Versuch bei 0,252 mg/l/48 h (Abb. 24). Aufgrund der technischen Information über Bayluscid^(R) der Firma Bayer AG-Leverkusen (1970) liegt der LC₅₀-Wert für Karpfen nach MARKING und HOGAN (1967) bei 0,235 mg/l. Zwischen diesen beiden, geringfügig voneinander abweichenden Werten, kann kein gravierender und bedeutender Unterschied gesehen werden. Diese Differenz könnte man auf die unterschiedliche Herkunft der Fische zurückführen. Die Versuche bestätigten nicht nur den LC₅₀-Wert und die toxische Wirkung von Bayluscid^(R) für Karpfen, sie zeigten ferner das Vergiftungsbild der Fische unter Bayluscid^(R)-Einfluß.

REICHENBACH-KLINKE (1976) beschrieb ein Schema (Abb. 25) für Fischvergiftung, das man in vier Phasen einteilen kann:

Die Diffusionsphase, die Infiltrationsphase, die Manifestationsphase und die Destruktionsphase. Die in diesen einzelnen Phasen beschriebenen Vergiftungserscheinungen beim Fisch entsprachen im großen und ganzen auch dem Bild der Versuchsfische unter Bayluscid^(R)-Einfluß. Nach Bayluscid^(R)-Vergiftung wurden ähnliche Symptome von PAFLITSCHKE (1977) an *Tilapia leucosticta* und *Heterotilapia multispinosa* beschrieben, die bei höheren Wirkstoffanteilen gesehen werden konnten. Bei tödlichen Konzentrationen bewegten die Versuchsfische sich schnell unter Körperzittern, drehten sich wie Kreisel (Rotationsbewegung), schossen nach Luft schnappend empor, sanken zu Boden des Beckens und starben mit schwacher Atembewegung, die gleich vor dem Tod nur noch undeutlich wahrzunehmen war.

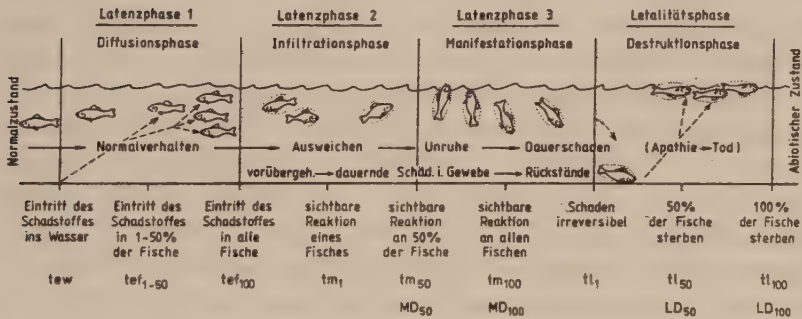


Abb. 25 Die verschiedenen Stadien der Fischvergiftung (nach REICHENBACH-KLINKE, 1976).

Es galt, zu untersuchen, in wie weit sich nach Einwirkung von Bayluscid^(R) bei Fischen Organschäden zeigen. Von allen Organen wurde besonders das Blut auf Veränderungen untersucht und zwar aus folgenden Gründen:

- a. Die subakuten Vorgänge lassen sich bereits im Blut nachweisen noch ehe die Fische ein äußerlich wahrnehmbares Vergiftungsbild zeigen (JÜLICH, 1977).
- b. Die Blutuntersuchungsmethoden sind einfach und benötigen weit weniger Zeit als die histopathologischen Untersuchungen am eigentlichen Gewebe.
- c. Da es bisher kaum Veröffentlichungen über den Bayluscid^(R) Einfluß auf das Fischblut gibt.

Als nachteilig erwies sich jedoch bei allen Blutuntersuchungen die geringe Spezifität bei der Veränderung der einzelnen Parameter; eine Zuordnung der Ergebnisse zu den verschiedenen typischen Krankheitsbildern ist bis jetzt nicht möglich. Dies läßt sich mit folgenden Beispielen belegen:

Die Zusammensetzung des Blutes wird durch verschiedene ökologische Faktoren (Sauerstoff, Schwermetalle) verändert. Bei *Salvelinus fontinalis* konnte MC KIM u.a. (1970) einen Anstieg der Erythrozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und Hämatokrits nach Kupfervergiftung feststellen. Nach Chromvergiftung wurde von STRIK (1975) an *Salmo gairdneri* ein Anstieg des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits ermittelt. ZEITHOUN (1977, 1978) beobachtete bei *Salmo gairdneri* einen reversiblen Anstieg des Hämatokrits und des Hämoglobingehaltes nach Chlorvergiftung.

KÖRTING (1968) kam zu dem Ergebnis, daß das Ammoniak zunächst zu einer Erhöhung der Erythrozytenzahl bei Fischen führt. Dagegen führt die Einwirkung von Phenol zu einer Verringerung der Erythrozytenzahl (HALSBAND, 1963).

OLLENSCHLÄGER (1973) berichtete über einen Anstieg der Erythrozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits nach Ozoneinfluß bei Regenbogenforellen. EISLER und EDMUNDS (1966)

beobachteten keine Veränderungen des Hämoglobingehaltes bei *Sphaeroides maculatus* nach Endrinvergiftung.

Während JÜLICH (1977) bei Karpfen und Regenbogenforellen nach Rogorvergiftung einen signifikanten Anstieg der Erythrozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits fand, fand JAUCH (1980) mit dem Insektizid Lebaycid, das dieselbe Wirkstoffgruppe wie Rogor enthält, daß die Erythrozytenzahl sowie der Hämoglobingehalt bei *Tilapia leucosticta* abgenommen hatte.

Über den Bayluscid^(R)-Einfluß auf das Blut der Fische gibt es bisher kaum Veröffentlichungen. Es gibt aber Arbeiten, die sich mit dem Bayluscid^(R)-Einfluß auf das Blutbild der Säugetiere (Ratte, Hund) beschäftigen. Diese Ergebnisse können nur begrenzt übertragen werden. HECHT und GLOXHUBER (1962) untersuchten das Blutbild nach Bayluscid^(R)-Einfluß an Ratten, die den Wirkstoff des Bayluscid^(R) in Höhe von 1 - 2,5 mg/kg Körpergewicht mit dem Futter über einen Zeitraum von 45 Wochen erhielten, sowie an Hunden, denen 5 mal/Woche die Wirkstoffdosis von 100 mg/kg in Gelatine Kapseln über einen Zeitraum von 1 Jahr verabreicht wurde. Die vorgenommenen Untersuchungen zeigten, daß die Hämoglobingehalte, die Erythrozytenzahlen, sowie die Differentialblutbilder an den untersuchten Tieren keine pathologischen Veränderungen ergaben.

In dieser Arbeit wurden Blutuntersuchungen an den für die Atmung besonders wichtigen Blutparametern - Erythrozytenzahl, Hämoglobin sowie Hämatokrit und Gesamteiweiß vorgenommen. Die Untersuchungen verliefen über einen Zeitraum von 1 bis 6 Wochen bei Bayluscid^(R)-Konzentrationen von 0,10, 0,20 und 0,25 mg/l im Wasser.

Die Ergebnisse der Erythrozytenzahlen zeigten einen Anstieg bei den Versuchsfischen bei allen Bayluscid^(R)-Konzentrationen. Dieser Anstieg erreichte das Maximum nach einer Woche mit einem signifikanten Unterschied ($P < 0,05$) von den Kontrollfischen. Nach der ersten Woche kam es zu einem Abfall der Erythrozytenzahlen, die aber die Mittelwerte der Kontrollfische nicht

unterschriften. Die Erhöhung der Erythrozytenzahlen bei den Versuchsfischen kann man auf zwei Möglichkeiten zurückführen:

a. Mobilisierung der Pro-Erythrozyten aus dem hämatopoetischen Gewebe (Kopfnieren, Milz).

b. Eindickung des Blutes durch Flüssigkeitsentzug.

Beziehen wir die Gesamteiweißwerte der Versuchsfische mit in die Auswertung ein, so zeigt das Gesamteiweiß keinen signifikanten Unterschied zwischen den mittleren Werten der Versuchs- und den Kontrollfischen auf die Versuchsdauer bei allen Bayluscid^(R)-Konzentrationen.

Der mit der Erhöhung der Erythrozytenzahl signifikante Anstieg des Hämoglobingehaltes des Blutes ($P < 0,01$) und pro Erythrozyt ($P < 0,01$) sowie die jugendlichen Erythrozytenformen, die im Blutaussstrich schon erkannt werden konnten, deuten darauf hin, daß die Blutbildungsreserven vom Fisch mobilisiert worden sind, um den wahrscheinlich durch Bayluscid^(R) verursachten Sauerstoffmangel, wie bei den Schnecken, zu kompensieren (siehe Wirkungsmechanismus von Bayluscid^(R) bei Schnecken).

Beziehen wir nun den Hämatokritwert der Versuchsfische in die Auswertung ein, so ist auch nach einer Woche ab Versuchsbeginn bei allen Bayluscidkonzentrationen ein Anstieg festzustellen ($P < 0,05$). Da der Hämatokrit Auskunft über eine Änderung im Wassergehalt von Plasma und Erythrozyten sowie Blut und extravasalem Flüssigkeitsraum gibt, und weil die Gesamteiweißwerte der Versuchsfische auf die Versuchsdauer keinen signifikanten Unterschied von den Normalwerten der Kontrollfische zeigten, könnte der Anstieg des Hämatokritwertes auf den Anstieg der Erythrozytenzahl durch Mobilisierung der Erythrozytenreserven zurückzuführen sein.

Die Blutuntersuchungen zeigten nach der ersten Woche eine Absenkung der Erythrozytenzahl, des Hämoglobingehaltes und des Hämatokrits in Richtung der Normalwerte der Kontrollfische, die aber die Mittelwerte der Kontrollfische nicht unterschritten. Das kann den Grund haben, daß die Fische sich an die Versuchsbedingungen anpaßten.

Da schon innerhalb der Fischpopulation eine individuell unterschiedliche Resistenz vorliegt, und da eine beträchtliche Zahl von Versuchsfischen auf die Versuchsdauer nur geringe Veränderungen (noch im Bereich der Kontrollfische) zeigten, sind die Ergebnisse der Blutuntersuchungen mit Vorsicht zu interpretieren.

Aus diesen Ergebnissen der verschiedenen Blutparameter und aufgrund der schnellen Anpassungsfähigkeit der Versuchsfische an die Versuchsbedingungen, die sich in einem unsignifikant unterschiedenen Blutbild gegenüber den Kontrollfischen äußert, scheint es zu sein, daß das Blut nicht der primäre Angriffspunkt des Bayluscid^(R) bei Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) ist.

Die Bayluscid^(R)-Rückstandsuntersuchungen wurden an Kiemenlamellen und Leber der Karpfen vorgenommen. Die Auswahl dieser beiden Organe erfolgte, weil die Fremdstoffe durch die Kiemen absorbiert und in der Leber teilweise bzw. vollständig metabolisiert werden (Biotransformation). KÖLLING (1976) beschrieb die Pharmakokinese eines Wirkstoffes und unterschied folgende Phasen:

In der ersten Phase ist die Aufnahme des Wirkstoffes größer als die Ausscheidung, also steigt die Menge des im Körper verfügbaren Wirkstoffes an. Dann wird ein Punkt erreicht, bei dem die Aufnahme und die Ausscheidung bei einer bestimmten täglichen Dosis gleich sind (Gleichgewicht). In diesem Stadium des Gleichgewichts zwischen Aufnahme und Ausscheidung (Eliminierung) ist ein Fließgleichgewicht der Speicherung erreicht mit einer konstanten Gesamt-Körperbelastung durch die Substanz. Die Akkumulationskonzentration steht mit einem konstanten Blutspiegel und einer konstanten Konzentration in anderen Geweben im dynamischen Gleichgewicht. KÖLLING (1976) berichtete auch, daß die Akkumulation und die Eliminierung exponentiell verlaufen und von der biologischen Halbwertszeit der Substanz abhängen. Viele Faktoren wie z.B. konstitutionelle Variationen und die Funktionsfähigkeit der Entgiftungsmechanismen beeinflussen die Halbwertszeit.

Die Untersuchungen auf Rückstände in Karpfenorganen zeigten, daß die Rückstandswerte von Bayluscid^(R) bis zur 2. Woche (bei Bayluscid^(R)-Konzentration von 0,25 mg/l) bzw. bis zur 3. Woche (bei Bayluscid^(R)-Konzentrationen von 0,10 u. 0,20 mg/l) anstiegen. Das deutet daraufhin, daß in dieser Phase die Aufnahme von Bayluscid^(R) größer als die Ausscheidung ist. Nach 3 Wochen (bei Bayluscid^(R)-Konzentration von 0,25 mg/l) bzw. 4 Wochen (bei Bayluscid^(R)-Konzentrationen von 0,10 und 0,20 mg/l) wurden die Rückstände langsam abgebaut, obwohl die Konzentrationen im Wasser konstant blieben (siehe Versuchsanordnung). Nach dem Abbau der Bayluscidrückstände in Karpfenorganen (Kiemenlamellen und Leber) zu schließen, dürfte keine langfristige Speicherung stattfinden. Diese Vermutung wurde durch die Ergebnisse der Eliminationsversuche an Versuchsfischen bestätigt. Die Fische wurden zunächst bei einer Konzentration von 0,20 mg/l im Wasser (80 % des LC₅₀-Werts) für 3 Wochen bei 20°C gehalten, danach in frisches Leitungswasser (ohne Bayluscid^(R)) umgesetzt. Die Rückstandsuntersuchungen wurden am 1., 2. und 4. Tag durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Eliminationsversuche zeigten, daß der Abbau von Bayluscid^(R)-Rückständen in den Karpfenorganen (Kiemenlamellen und Leber) so schnell war, daß schon nach 48 h der Rückstandswert bei 1,0 µg/g NG. in der Leber und in den Kiemenlamellen unter der Bestimmungsgrenze lag. Aus diesem Grund ist nach Aufhören der Kontamination mit keiner langfristigen Akkumulation des Wirkstoffes zu rechnen. Das bestätigen auch die Untersuchungsergebnisse von DUHM et al. (1963) an Ratten.

STATHAN und LECH (1975) arbeiteten mit Bayluscid-C¹⁴ an Regenbogenforellen, die für 12 h bei einer Bayluscidkonzentration von 0,05 mg/l Wasser gehalten wurden. Auch sie beobachteten einen raschen Abbau. Nach dem Transfer der Versuchsfische in frisches Wasser betrug die Eliminationszeit für Bayluscid 48 - 72 Stunden.

Insgesamt ergibt sich, daß bei den normalerweise angewandten Konzentrationen zur Schneckenvernichtung die Fischpopulation erheblich geschädigt wird. Die subletalen Wirkungen sind an

den Blutparametern gut zu erkennen. Andererseits wird Baylucid^(R) schnell eliminiert und ist 48 Stunden nach Aufhören der Kontamination im Wasser im Fischkörper nur noch in Spuren - und weiteren 48 Stunden nicht mehr - nachweisbar.

E. Zusammenfassung:

An Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio* L.) wurden die Rückstände von Bayluscid^(R) und dessen Einwirkung auf das Blutbild untersucht. Die Versuchsdauer betrug 6 Wochen bei 20°C und Bayluscid^(R)-Konzentrationen von 0,10, 0,20 und 0,25 mg/l Wasser.

Zunächst wurde der LC₅₀-Wert ermittelt, der bei 0,252 mg/l/48 h lag.

Die statistische Auswertung sämtlicher gewonnener Blutwerte der Versuchsfische bei allen Konzentrationen zeigte nach einer Woche Einwirkungsdauer bei den Erythrozytenzahlen, dem Hämatokrit, dem Hämoglobingehalt des Blutes und pro Erythrozyt eine signifikante Erhöhung gegenüber den Kontrollwerten. Dagegen war beim Gesamteiweiß kein signifikanter Unterschied während der Gesamtversuchsdauer zu erkennen.

Von der 2. Woche an und bis zum Versuchsende zeigten die Blutwerte der Versuchsfische bei den Erythrozytenzahlen, dem Hämatokrit, dem Hämoglobingehalt des Blutes und pro Erythrozyt einen Abfall gegenüber den Kontrollwerten, die aber die Mittelwerte der Kontrollfische nicht unterschritten.

Die Rückstandsuntersuchungen von Bayluscid^(R) wurden an Kiemen und Leber der Spiegelkarpfen durchgeführt. Dabei ließ sich feststellen, daß Rückstände in den Kiemenlamellen und Leber nach 2 Wochen (bei Konzentration von 0,25 mg/l Wasser) bzw. nach 3 Wochen (0,10 und 0,20 mg/l Wasser) ihr Maximum erreichten. Danach war ein langsamer Abbau der Werte bis zum Versuchsende (6. Woche) zu beobachten.

Eliminationsversuche bei den Fischen, die bei einer Konzentration von 0,20 mg/l Wasser (ca. 80% des LC_{50} -Wertes) für 3 Wochen gehalten und danach in frisches Leitungswasser umgesetzt wurden, zeigten einen raschen Abbau der Rückstände in den Kiemen und der Leber. Während nach 48 Stunden ab Transfer der Versuchsfische in frisches Leitungswasser die Rückstände in der Leber bei 1,0 $\mu\text{g/g}$ lagen, lagen sie in den Kiemenlamellen unter der Bestimmungsgrenze.

Aufgrund der schnellen Eliminierung des Bayluscids^(R) aus den Karpfenorganen (schnelle biologische Halbwertszeit) ist eine längere Speicherung (Akkumulation) in den Karpfenorganen nach Aufhören der Kontamination im Wasser nicht zu erwarten.

SUMMARY:

Residues of Bayluscid^(R) and their effect on the bloodsystem was investigated on mirror Carp (*Cyprinus carpio* L.). The time of experience was 6 weeks at 20°C and Bayluscid^(R)-concentrations amounted 0,10, 0,20 and 0,25 mg/l water.

The LC₅₀-Value was determined. This was 0,252 mg/l in 48h.

The statistical evaluation was showing that the blood parameter of experimental fish in all concentrations after 1 week of effectiveness had a significant increase towards control fish. This concerns the number of erythrocytes, hematocrit, contents of hemoglobin in the blood and pro erythrocyte. In view of the total protein there was no significant difference during the total experimental time.

Beginning in the 2nd week to the end of the experiment the blood values (number of erythrocytes, hematocrite, hemoglobin) were showing a decrease towards the control values. The median values of the control fish were not undergone.

Investigations in view of Bayluscid^(R) residues were persued at the gills and the liver of Carp. It was seen that the residues in the gills and liver were coming to the maximum after 2 weeks (0,25 mg/l water) respective 3 weeks (0,10 and 0,20 mg/l water). Afterwards there was slow decrease to the end of the experiment (6 weeks).

For 3 weeks experiments about the elimination in fish held in a concentration of 0,20 mg/l water were persued. Afterwards a quick decrease of the residues was seen in the gills and liver. 48 h beginning with the transfer of the fish into fresh water the residues were 1,0 µg/g in the liver. Afterwhat they were undergoing the determination limit in the gills.

A longer stay of accumulation of Bayluscid^(R) in the organs of the carp cannot be supposed due to the quick elimination. Shortly after the cessation of the contamination in the water the presence of residues cannot be awaited.

F. Literaturverzeichnis:

- ANTHONY, A. (1960): zit. in von Buddenbrock (1967).
Vergleichende Physiologie Band VI, Blut und Herz,
75.
- BAYER AG (1970): Bayluscid^(R) (Bayer 73) - Technische Informa-
tion. Bayer Leverkusen.
- BILLS, T.D. and L.L. MARKING (1976): Toxicity of 3-trifluoro-
methyl-4-nitrophenol (TFM), 2,5-Dichlor-4-nitro-
salicylanilid (Bayer 73), and a 98 : 2 Mixture to
Fingerlings of seven Fish Species and to Eggs and
Fry Coho Salmon.
United States Department of Interior, Fish and
Wildlife Service, Washington, D.C.69, 1-9.
- VON BUDDENBROCK, W. (1967): Vergleichende Physiologie, Band VI,
Blut und Herz.
Birkhäuser Verlag, Basel.
- Deutsche Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung.
Vom Wasser, 46, 2. Teil, 8. Lief., 291 - 295 (1976).
- DOMBROWSKI, H. (1953): Das Blut des gesunden Karpfens.
Fischwirt, 3, 345 - 348.
- DUHM, B., W. MAUL, H. MEDENWALD, K. PATZSCHE und L.A. WEGNER
(1963): Radioaktive Untersuchungen mit einem neuen
Molluskizid.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 16 (5), 258 - 268.
- EISLER, R. und PH.H. EDMUNDS (1966): Effects of endrin on
blood and tissue chemistry of a marine fish.
Trans. Amer. Fish. Soc. 95, 153 - 159.
- FARRINGTON, K.J. (1962): Spectrophotometric estimation of
molluscicide 5,2-Dichlor-4-nitrosalicylanilide.
Analyt. Chem. 34, 1338 - 1339.
- FAROOQ, M., N.G. HAIRSTON und S.A. SAMAAAN (1966): Vorläufiger
Bericht über die Auswirkung von Schneckenbekämp-
fungsmaßnahmen auf die Bilharziose in Ägypten.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 19 (1), 43 - 52.

- FLEMMING, H. (1958): Untersuchungen über die Bluteiweißkörper gesunder und bauchwassersuchtkranker Karpfen.
Z. Fischerei N.F. 7, 91 - 152.
- FOSTER, R. (1962): Weitere Beobachtungen bei Versuchen mit Bayluscid gegen ostafrikanische Schnecken.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 71 - 75.
- FOSTER, R., C. TEESDALE und G.F. POULTON (1960): Trials with a new Molluscicide.
Bull. W H O, 22, 543 - 548.
- FRITZSCHE, S. (1977): Einflüsse der Untersuchungstechnik auf den Hämatokritwert der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*).
Z. Binnenfischerei 14, 309 - 312.
- FRITZSCHE, S. (1978): Ergänzende Untersuchungen zur Bestimmung des Hämatokritwerts bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*).
Z. Binnenfischerei 25, 161 - 192.
- GELINEO, S. (1957): Le taux de l'hémoglobine Sanguine de plusieurs espèces de poissons du mer.
C. r. Soc. Biol. 149.
- GILLET, J. und P. BRUAUX (1962): Versuche mit Bayluscid (Bayer 73) im Labor und Freiland.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15(1), 71 - 75.
- GÖNNERT, R. (1961): Results of laboratory and field trials with the new molluscicide Bayer 73.
Bull. WHO, 25, 483 - 501.
- GÖNNERT, R. (1962): Bayluscid, ein neues Mittel zur Bekämpfung medizinisch wichtiger Süßwasserschnecken.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 4 - 25.
- GÖNNERT, R. und E. SCHRAUFSTÄTTER (1959): A new molluscicide; Molluscicide Bayer 73.
Proc. VI. Intern.Con.Trop.Med. and Malaria, II, 197 - 202.

- GÖNNERT, R. und STRUFE (1961): Untersuchungen über die Stabilität von Bayluscid als Mittel zur Schneckenvernichtung.
Tropenmed. Parasit., 12, 220 - 234.
- HALSBAND, E.J. (1963): Veränderungen des Blutbildes infolge toxischer Schäden.
Arch. Fischereiwiss. 14, 68 - 85.
- HECHT, G. und CHR. GLOXHUBER (1962): Untersuchungen über die Verträglichkeit von 5,2-Dichlor-4-nitro-Salicylanilid-äthanolamin.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 34 - 41.
- HOFFMEYER, L.W. (1907): Untersuchungen über normales und abnormales Fischblut.
Dissertation Philos. Fak. Universität Bern.
- HOLZ, J. und ONG BIE HWA (1963): Über Einflüsse des Molluski-zids Bayluscid auf Plankton indonesischer Fischteiche und Reisfelder.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 16 (5), 221 - 230.
- HULBERT, S.H. (1975): Secondary effects of pesticides on aquatic ecosystems.
Residue Reviews 57, 81 - 148.
- JAUCH, D. (1980): Untersuchungen über toxische Wirkung des Organophosphats Lebaycid (R) auf Atmung und Kreislauf der Buntbarsche *Heterotilapia multispinosa* (Günther 1898) und *Tilapia leucosticta* (Trewavas 1933).
Dissertation, Naturwiss.Fak.Universität Tübingen.
- JÜLICH, F. (1977): Hämatologische Untersuchungen an Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) und Karpfen (*Cyprinus carpio*) nach Einwirkung von subletalen Konzentrationen der Pflanzenschutzmittel Rogor, Benomyl, Pomuran und Domatol
Dissertation, Naturwiss.Fak.Universität Tübingen.
- KÖLLING, K. (1976): Die Pflanzenschutzmittelanreicherung in der Umwelt aus der Sicht der Ernährungswissenschaften.
Fisch und Umwelt, Gustav Fischer Verlag.Stuttgart.
New York. 2, 65 - 77.

- KÖRTING, W. (1968): Untersuchungen zur Einwirkung des Ammoniaks auf das Blut der Fische.
Dissertation Fak.Biologie der Universität München.
- KOZIANOWSKI, A. (1964): Untersuchungen über die Eignung neuer Molluskizide zur Schneckenbekämpfung in Teichwirtschaften.
Z. Fischerei N.F., XII. 235 - 245.
- KUDRJAZEW, A.A., A.KUDRJAZEWA und T.I. PRIWOLNJEV (1969):
Hämatologie der Tiere und Fische
Verlag Kolos, Moskau.
- LEHMANN, J. und F.J. STÜRENBERG (1974): Hämatologisch-serologische Substratuntersuchungen an der Regenbogenforelle.
Gewässer und Abwässer, 53/54, 114 - 132.
- LEMBECK, F. und D. WINNE (1965): Die Auswertung von Versuchsergebnissen.
In: "Pharmakologisches Praktikum"
Hrsg. Lembeck, F. und D. Winne, Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- LIEBMANN, H., K. OFFHAUS und S. RIEDMÜLLER (1960): Elektrophoretische Blutuntersuchungen bei normalen und bauchwassersuchtkranken Karpfen
Schweiz Z.Hydrol. 12, 507 - 517.
- MADENWALD, H. und C.J. SHIFF (1965): Labor- und Feldversuche zur Prüfung des Einflusses von Bayluscid auf Citrusbäume.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 18 (3), 146 - 152.
- MAGENDANTZ, M. (1974): Versuche zur Schneckenbekämpfung und Empfehlung zur Reduktion der Schistosomiasis-Übertragung in einem Siedlungsgebiet am Viktoria See.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 27 (1), 46 - 56.
- MARKING, L.L. und J.W. HOGAN (1967): Investigation in fish control.
19. Toxicity of Bayer 73 to fish.
United States Department of Interior, Bureau of Sport Fisheries.
Wildl. Resource Public. 36, Washington.

- MC KIM, J.M., G.M. CHRISTENSEN und H.P. EVELYN (1970):
Changes in the blood of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short-term and long-term exposure to copper.
J. Fish. Res. Bd. Can. 27, 1883 - 1889.
- MOLNAR, GY. und E. TAMASSY (1970): Study of the Hämoglobin content of a single Erythrocyte (Mindex) in various cultured fish species.
J. of Fish Biol. 2, 167 - 172.
- NICLOUX, M. (1923): Action de l'oxyde de carbone sur les poissons et capacité respiratoire du sang de ces animaux,
C.r.Soc. Biol., Paris 89.
- OLLENSCHLÄGER, B. (1973): Untersuchungen über die Einwirkung des Ozons auf das Blut und einige Organe der Regenbogenforelle.
Vet. med.Diss., München.
- PAFLITSCHKE, R. (1977): Untersuchungen über die toxische Wirkung von Bayluscid und Lebaycid auf Ei-, Jugend- und Adultstadien der Buntbarsche *Tilapia leucosticta* (Trewavas, 1933) und *Heterotilapia multispinosa*.
Dissertation, Naturwiss.Fak. Universität Tübingen.
- PANDEY, P.K. (1974): Untersuchungen zur hämatologischen Diagnostik der Schwimmblasenentzündung des Karpfens (*Cyprinus carpio* L.).
Arch. exper. Vet.med., 577 - 593.
- PHILIPS, A.M. (1940): Meatless Diets and Anemia.
Prog. Fish Cult. 48, 11 - 13.
- REICHENBACH-KLINKE, H.H. (1976): Überblick über die für Fische schädlichen Gifte im Abwasser.
Fisch und Umwelt, 2, 3 - 7.
Gustav Fischer Verlag. Stuttgart. New York.
- REICHENBACH-KLINKE, H.H. (1980): Krankheiten und Schädigungen der Fische.
2. Auflage, Gustav Fischer Verlag. Stuttgart.
New York.
- SACHS, L. (Hrsg.) (1974): Angewandte Statistik.
Springer Verlag, Berlin. Heidelberg. New York, S.109.

- SCHRAUFSTÄTTER, E. (1962): Die chemische Entwicklung von Bayluscid.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 25 - 33.
- SCHRAUFSTÄTTER, E., W. MEISER, R. GÖNNERT (1961): Untersuchungen über ein neues Molluskizid.
Mitteilung: Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung.
Z. Naturforsch. 16 b, 95 - 108.
- SCHLICHER, J. (1927): Vergleichend-physiologische Untersuchungen der Blutkörperchenzahlen bei Knochenfischen.
Zool. Jb. Abt. Phys. 43 121 - 200.
- SORWATSCHEW, K.F. (1957): Veränderung des Eiweißgehaltes im Blutserum des Karpfens während der Überwinterung.
Biochemie 22, 872 - 878.
- STATHAM C.N. and J.J. LECH (1975): Metabolism of 2,5-Dichlor-4-nitro-Salicylanilid (Bayer 73) in Rainbow Trout (Salmo gairdneri).
J. Fish Res.Bd.Can. 32 (4), 515 - 522.
- STEFFENS, W. (1955): Der Einfluß von Umweltfaktoren auf die Höhe des Hämoglobingehaltes und die Erythrozytenzahl.
Z. Fischerei N.F. 4, 161 - 188.
- STRIK, J.J.T.W.A., H.H. DE JONGH, J.W.A. VAN RIJN VAN ALKEMADE und T.P. WUITE (1975): Toxicity of chromium (VI) in fish with special reference to organoweights, liver and plasma enzyme activities, blood parameters and histological alterations.
In: Koeman J.H. und Strik, J.J.W.A.: Sublethal effects of toxic chemicals on aquatic animals.
Wageningen.
- STRUFE, R. (1962): Die Bestimmung von Bayluscid^(R) bei Feldversuchen.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 42 - 49.
- STRUFE, R. (1963): Vereinfachte Methode zur Bestimmung von Bayluscid bei Feldversuchen.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 16 (5), 221 - 230.

- STRUFE, R. (1965): Labormethoden zur Bestimmung von Bayluscid in Wasserproben.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 18 (3), 130 - 139.
- STURROCK, R.F., G. BARNISH und J. SEEYAUE (1974): Freilandversuche mit drei molluskiziden Substanzen im Bananenbau.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 27 (1), 57 - 62.
- TOPF, W. (1953): Über die Blutbildung und Blutbildungsorgane beim Karpfen. Vorläufige Mitteilung.
Zool. Anz. 150, 91 - 104.
- VERDEL, K.D., K.B. CUMMING, and P.A. GILDERHUS (1977): Efficacy of 3-Trifluoromethyl-4-nitrophenol (TFM), 2,5-Dichlor-4-nitrosalicylanilide (Bayer 73), and a 98:2 Mixture as Lampricides in Laboratory Studies.
Investigations in Fish Control.
United States Department of the Interior,
Fish and Wildlife Service, Washington, D.C.
- WEBBE, G. (1962): Feldversuche mit dem Molluskizid Bayer 73 (Bayluscid) in Tanganyika.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 15 (1), 86 - 92.
- WEDEMEYER, G. (1970): Stress of Aesthesia with M.S.222 and Benzocaine in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
J.Fish. Res. Bd. Canada 27, 909 - 914.
- WILD, H. und D.S. MITCHELL (1970): Der Einfluß von Bayluscid auf den Wasserfarn *Salvinia auriculata* und andere Wasserpflanzen.
Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 23 (2), 112 - 117.
- WUHRMANN, F. und CH. WUNDERLY (1952): Die Bluteiweißkörper des Menschen.
B. Schwabe und Co., Basel.
- ZEITHOUN, I.H. (1977): The effect of chlorine toxicity on certain blood parameter of adult rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Env. Biol. Fish. 1, 189 - 195.
- ZEITHOUN, I.H. (1978): The recovery and hematological rehabilitation of chlorine stressed adult rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
Env. Biol. Fish. 3, 355 - 359.

DANKSAGUNG

Mein besonders aufrichtiger Dank gilt Herrn Professor Dr. H.H.Reichenbach-Klinke für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Leitung und für die jederzeit gewährte Unterstützung.

Ferner möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. M.Ruf, Vorstand des Instituts für Zoologie und Hydrobiologie und Vorstand der Bayerischen Landesanstalt für Wasserforschung in München für die Überlassung des Arbeitsplatzes danken.

Großer Dank gilt ebenfalls Herrn Professor Dr. K.Osterkorn für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung sowie Herrn Dr. F.Braun und seinen Mitarbeitern, in dessen Räumen ich mir die für die Arbeit erforderliche Technik aneignen durfte.

Herrn Dr. B.Ollenschläger sowie Frau Dr. Lommel und Frau Dipl. Biol. Van de Graaff gilt mein aufrichtiger Dank für die Betreuung und Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Zoologie und Hydrobiologie, die zum Zustandekommen dieser Arbeit beigetragen haben, danke ich herzlich.

Der Tierärztlichen Fakultät der Universität München bin ich zu verbindlichem Dank verpflichtet für die Erteilung eines Studienplatzes als Stipendiat der Arabischen Republik Ägypten zur Promotion.

LEBENS LAUF

Name	:	Marzouk
Vorname	:	Mohamed Sayed Mohamed
Familienstand	:	verheiratet seit Mai 1977 mit Nawal Marzouk geb. Dahi
31.08.1950	:	Geboren als Sohn des Beamten Sayed Mohamed Marzouk und dessen Ehefrau Soria Ibrahim in Kairo (Ägypten)
1956 - 1962	:	Besuch der Grundschule in Kairo
1962 - 1965	:	Besuch der Mittelschule in Kairo
1965 - 1968	:	Besuch der Oberschule (Secondary School) in Kairo
1968	:	Abitur
1968 - 1973	:	Studium der Veterinärmedizin an der Universität Kairo
Juni 1973	:	Erlangung des Grades eines Bachelor(B.V.Sc.)
Dezember 1973 -		
Januar 1977	:	Wissenschaftlicher Assistent am Tiermedizinischen Institut der Universität Kairo.
1975	:	Ablegung der Prüfung nach dem "Postgraduated Study"
Januar 1977	:	Erlangung des Grades eines Master (M.V.Sc.)
Februar 1977	:	Assistent Lektor am Tiermedizinischen Institut der Universität Kairo.
März 1977	:	Einschreibung zur Erlangung des Ph.D. bei Prof. Dr.F.I. Awad.
Oktober 1977 -		
März 1978	:	Besuch des Goethe-Instituts in Blaubeuren (Baden - Württemberg) zur Vervollständigung der deutschen Sprache.
Mai 1978 -		
Oktober 1978	:	Besuch des Deutschkurses für Ausländer an der Universität München.
Seit Oktober 1978		
bis jetzt	:	Doktorand am Lehrstuhl für Zoologie und Hydrobiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München zur Anfertigung der vorgelegten Dissertation unter Anleitung von Prof.Dr. H.H.Reichenbach-Klinke zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde.

